



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

SELETIVIDADE ALIMENTAR DOS KOALAS DO JARDIM ZOLÓGICO DE LISBOA

ELIANA MACIEL BARROS LIMA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Carlos Mendes Godinho de Andrade Fontes

Doutor Luís Manuel dos Anjos Ferreira

Doutora Ilda Maria Neto Gomes Rosa

ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel dos Anjos Ferreira

CO-ORIENTADOR

Doutor Francisco Manuel Cardoso de Castro Rego

2013

LISBOA

---





UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

SELETIVIDADE ALIMENTAR DOS KOALAS DO JARDIM ZOOLOGICO DE LISBOA

ELIANA MACIEL BARROS LIMA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ORIENTADOR

Doutor Luís Ferreira

CO-ORIENTADOR

Doutor Francisco Rego

2013

LISBOA

---

## **Agradecimentos**

Agradeço ao Professor Francisco Rego por ter despertado o meu interesse na área da ecologia alimentar, a simpatia, a ajuda no tratamento estatístico dos dados e as conversas inspiradoras.

Ao Professor Luís Ferreira, deixo uma palavra de agradecimento por ter aceitado orientar este trabalho, pela simpatia e por toda a disponibilidade demonstrada.

À direção do Jardim Zoológico de Lisboa e ao Dr. Rui Bernardino agradeço a oportunidade de realização deste trabalho e o acesso aos registos recolhidos sobre as preferências alimentares dos koalas.

À professora Paula Soares, deixo uma palavra de gratidão por toda a disponibilidade demonstrada e pelo apoio dado no apoio às colheitas do eucalipto. Sem a sua ajuda, este trabalho não estaria completo.

Deixo um agradecimento especial ao Barreto, à Clara e à Lucinda pelo o auxílio nas colheitas de amostras de eucalipto e pelo o apoio durante a observação do comportamento alimentar dos koalas. Sem a sua dedicação, este trabalho não seria possível.

À Professora Luísa Falcão agradeço por me ter recebido no Laboratório Prof. Pais de Azevedo e pela ajuda na análise dos dados sobre os teores nutricionais do eucalipto.

À Eng.<sup>a</sup> Maria José Fernandes deixo também um muito obrigada pela ajuda dada no laboratório.

Por último, agradeço à minha família o apoio incondicional e o constante incentivo. Ao Martim, agradeço a paciência e as palavras motivadoras.

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi estudar a seletividade alimentar dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa. Para tal, efetuou-se uma análise estatística dos registos diários sobre o consumo dos mesmos, recolhidos pelos seus tratadores no período compreendido entre 2008 e 2012, conduziram-se testes de cafeteria para analisar as preferências alimentares destes animais e determinados aspetos do seu comportamento alimentar, e, por último, determinou-se o conteúdo nutricional (matéria seca, cinza, fibra e proteína) de 54 amostras de eucalipto fornecido aos koalas. Os animais estudados têm acesso a uma dieta diversificada (cerca de 30 espécies de eucalipto), o que permite um elevado nível de seletividade. As análises estatísticas mostraram diferenças significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre o nível de preferência médio individual dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa, o que pode estar relacionado com diferenças fisiológicas (sexo, idade, estado reprodutivo) e/ou com experiências alimentares prévias. Os indivíduos analisados mostraram um nível de preferência superior para determinadas espécies de eucalipto, tais como *Eucalyptus botryoides*, *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. macarthurii*, *E. occidentalis*, *E. ovata*, *E. polyanthemus*, *E. robusta* e *E. tereticornis*. Foi detetada variação dos níveis médios de preferências ao longo do ano das espécies de eucalipto mais frequentemente fornecidas aos koalas. Esta informação poderá vir a ser útil para os veterinários e tratadores do Jardim Zoológico de Lisboa, permitindo a provisão diferenciada de alimento ao longo do ano e uma melhor gestão dos arboretos de onde provém o alimento dos koalas.

Os animais sob estudo exibiram um nível médio de preferência superior para as espécies de eucalipto procedentes da Mata do Escaroupim, à exceção de *E. maculata*, *E. occidentalis*, *E. perriana* e *E. rudis*, que possuíram um nível de preferência superior quando foram originárias do Instituto Superior de Agronomia. Estas diferenças podem estar relacionadas com diferenças a nível genético entre as duas populações ou com a diferente idade das árvores dos dois locais. Os teores nutricionais das amostras de eucalipto analisadas foram similares aos referidos na literatura. Todas as amostras apresentaram níveis de azoto superiores ao limite mínimo para a manutenção de koalas referido na literatura.

Os resultados deste trabalho estão em conformidade com as últimas descobertas, que sublinham a complexidade entre a ingestão, a palatabilidade e a composição química da folhagem na ecologia alimentar dos koalas.

**Palavras-chave:** koala, *Phascolarctos cinereus*, *Eucalyptus*, seletividade, alimento.

## Abstract

The aim of his work was to study the feeding preferences of the koalas from the Zoo of Lisbon. First, a statistical analysis of the available data (between 2008 and 2012, recorded by the keepers) about the daily food preference level of the koalas was conducted, for different *Eucalyptus* species. Secondly, some “cafeteria trials” were performed to examine some aspects of the koalas’ food preferences and feeding behavior. Finally, nutritional content (dry matter, ash, fiber and protein) of 56 samples of *Eucalyptus* given to koalas was analyzed.

The five animals under study have access to a very diverse diet (about 30 eucalyptus species), which allows a great level of selectivity. Statistical analysis indicated significant differences ( $P \leq 0,05$ ) between the food average preference levels of individual koalas, which may be related with physiological (age, sex, reproductive state) and/or sociological differences between them, and even with previous food experiences. Koalas showed a higher average level of preferences for some *Eucalyptus* species, like *Eucalyptus botryoides*, *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. macarthurii*, *E. occidentalis*, *E. ovata*, *E. polyanthemus*, *E. robusta* and *E. tereticornis*. There was some variation of the average food preferences during the year. This information may become useful for keepers and veterinarians, allowing a differentiated feed supply during the year, as well as an optimization of the management of eucalyptus plantations. Koalas showed a higher average level of food preferences when the eucalyptus trees originated from Escaroupim forest, except for the species *E. maculata*, *E. occidentalis*, *E. perriana* and *E. rudis*, which showed a higher level of preferences when coming from Instituto Superior de Agronomia. These differences may be related to genetic and/or age differences between the tree populations of the places referred.

The nutritional content of the eucalyptus samples was similar to that reported in the literature, when information about the eucalyptus species was available. Every sample presented greater nitrogen levels than the minimum threshold for koalas nutritional maintenance needs referred by Cork (1986).

The results of this work are in accordance with the latest discoveries, which reveal the complexity in the interactions between ingestion, palatability and foliage composition in the koala food ecology.

**Keywords:** koala, *Phascolarctos cinereus*, *Eucalyptus*, selectivity, food.

## Índice

INTRODUÇÃO .....	1
CAPÍTULO 1 - ESTADO DA ARTE .....	5
SECÇÃO 1.1. TAXONOMIA, HISTÓRIA NATURAL, DISTRIBUIÇÃO E CONSERVAÇÃO DA ESPÉCIE <i>PHASCOLARCTOS CINEREUS</i> .....	6
1.1.1. Sumária descrição da espécie .....	6
1.1.2. Classificação taxonómica.....	6
1.1.3. História natural.....	7
1.1.4. Distribuição e abundância .....	8
1.1.5. Conservação da espécie.....	8
SECÇÃO 1.2. SELETIVIDADE ALIMENTAR DOS KOALAS .....	10
1.2.1. A seletividade alimentar dos koalas como ponto de interesse dos investigadores ao longo do século.....	12
1.2.2. Os desafios alimentares enfrentados pelos koalas: fatores que influenciam a seletividade alimentar .....	12
1.2.2.1. Variação sazonal.....	12
1.2.2.2. Variação regional.....	13
1.2.2.3. Variação intraespecífica.....	14
1.2.2.4. Importância da maturação foliar.....	14
SECÇÃO 1.3. FOLHAGEM DE EUCALIPTO: CLASSIFICAÇÃO TAXONÓMICA, CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS E ANTI-NUTRICIONAIS.....	15
1.3.1. Classificação taxonómica e diversidade das características morfológicas .....	15
1.3.2. Composição química das folhas de eucalipto .....	15
1.3.2.1. Características nutricionais do eucalipto.....	16
1.3.2.1.1. Teor de Energia.....	16
1.3.2.1.2. Teor de água.....	17

1.3.2.1.3. Teor de proteína bruta.....	17
1.3.2.2. Características anti-nutricionais do eucalipto.....	18
1.3.2.2.1. Terpenos.....	19
1.3.2.2.2. Taninos.....	20
1.3.2.2.3. Glicosídeos cianogénicos.....	21
1.3.2.2.4. Compostos Floroglucinois Formilados (CFF).....	21
1.3.2.2.4.1. Estrutura molecular.....	21
1.3.2.2.4.2. A relação entre terpenos e CFF.....	23
1.3.2.2.4.3. A distribuição dos CFF no eucalipto.....	24
 SECÇÃO 1.4. SOBREVIVER COM UMA DIETA CONSTITUÍDA POR EUCALIPTO: ESTRATÉGIAS ANATÓMICAS, FISIOLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS EMPREGUES PELOS KOALAS .....	 25
1.4.1. Reduzido conteúdo energético: a manutenção de baixa taxa de metabolismo basal.....	25
1.4.2. Alto conteúdo em fibra e reduzido teor em proteína: ação vital da mastigação, importância do pH estomacal e retenção diferencial de partículas no intestino grosso..	25
1.4.3. Regulação da ingestão e da metabolização dos compostos secundários do eucalipto .....	28
1.4.4. O sabor amargo da ingesta, o surgimento de náusea e a taxa de destoxificação como agentes limitantes da ingestão .....	28
1.4.5. Alterações comportamentais como somatório dos mecanismos de feedback .....	30
 CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS .....	33
 CAPÍTULO 3 - METODOLOGIA .....	35
 SECÇÃO 3.1. METODOLOGIA - ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS .....	36
3.1.1. Análise preliminar dos dados.....	36
3.1.2. Relação entre a classificação do consumo pelos tratadores e o consumo real....	36
3.1.3. Análise do nível de preferência de cada espécie de eucalipto.....	37
3.1.4. Análise do nível de preferência das espécies provenientes da Mata do Escaroupim e do Instituto Superior de Agronomia.....	37



3.1.5. Variação dos níveis de preferência ao longo do ano.....	38
<b>SECÇÃO 3. 2. METODOLOGIA APLICADA NA REALIZAÇÃO DOS “TESTES DE CAFETERIA .....</b>	<b>38</b>
3.2.1. Local de estudo e indivíduos.....	38
3.2.2. Período em que decorreu o estudo.....	39
3.2.3. Colheita e armazenamento do alimento.....	39
3.2.4. Método da observação.....	39
<b>SECÇÃO 3.3. METODOLOGIA APLICADA NA ANÁLISE NUTRICIONAL DA FOLHAGEM DE EUCALIPTO .....</b>	<b>43</b>
3.3.1. Local de análise laboratorial.....	43
3.3.2. Período em que decorreu a análise.....	43
3.3.3. Recolha e armazenamento da amostra.....	44
3.4. Metodologias aplicadas nos procedimentos laboratoriais.....	44
3.4.1. Preparação da amostra e 1ª fase da determinação da matéria seca (63º).....	44
3.4.2. 2ª fase da determinação da matéria seca (a 103ºC).....	44
3.4.3. Determinação da cinza.....	45
3.4.4. Determinação sequencial da fibra detergente.....	45
3.4.4.1. Determinação Fibra Detergente Neutra (NDF).....	46
3.4.4.2. Determinação da Fibra Detergente Ácida (ADF).....	46
3.4.4.3. Determinação de Lenhina Detergente Ácida (ADL).....	46
3.4.5. Determinação do teor de proteína bruta.....	47
<b>CAPÍTULO 4 - RESULTADOS .....</b>	<b>49</b>
<b>SECÇÃO 4.1. SELETIVIDADE ALIMENTAR NO PERÍODO 2008-2012 .....</b>	<b>50</b>
4.1.1. Relação entre o consumo real e classificação do nível de ingestão pelos tratadores .....	50
4.1.2. Níveis médios de preferências dos indivíduos /grupos de animais para as diversas espécies de eucalipto .....	51

4.1.3. Níveis médios de preferências relativos às várias espécies de eucalipto provenientes da Mata do Escaroupim e do Instituto Superior de Agronomia.....	55
4.1.4. Variação dos níveis médios de preferências ao longo do ano para sete espécies de eucalipto .....	56
SECÇÃO 4.2. RESULTADOS - TESTES DE CAFETARIA.....	58
4.1.2. Tempo despendido, em média, no consumo de cada espécie de eucalipto .....	59
4.2.2. Consumo médio, em gramas, de cada espécie de eucalipto.....	60
4.2.3. Tempo despendido, em média, no consumo de cada espécie de eucalipto, pelos machos.....	61
4.2.4. Consumo médio, em gramas, de cada espécie de eucalipto, pelos machos.....	62
4.2.5. Relação entre quantidade de folhagem ingerida e peso dos koalas.....	62
SECÇÃO 4.3. RESULTADOS – DETERMINAÇÃO DOS CONSTITUINTES NUTRICIONAIS DO EUCALIPTO.....	63
CAPÍTULO 5 - DISCUSSÃO .....	67
SECÇÃO 5.1. DISCUSSÃO - SELETIVIDADE ALIMENTAR DOS KOALAS NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE 2008 A 2012.....	68
5.1.1. Classificação do consumo pelos tratadores .....	68
5.1.2. Comparação dos níveis médios de preferências entre indivíduos.....	70
5.1.3. Comparação dos níveis de preferência da folhagem proveniente do Instituto Superior de Agronomia e da Mata do Escaroupim.....	72
5.1.4. Análise da variação do nível de preferências ao longo do ano.....	74
5.1.5. Conclusão e trabalhos futuros no âmbito da análise da seletividade alimentar....	75
SECÇÃO 5.2. DISCUSSÃO - TESTES DE CAFETARIA.....	75
5.2.1. Preferências iniciais.....	75
5.2.2. Preferências finais.....	76
5.2.3. Diferenças individuais a nível das preferências.....	79
5.2.4. Reação dos koalas aos molhos de eucalipto.....	77
5.2.5. Duração das refeições.....	79
5.2.6. Breves referências a comportamentos alimentares observados.....	79

5.2.7. Relação entre peso corporal e consumo.....	80
5.2.8. Conclusão e trabalhos futuros no âmbito dos testes de cafeteria.....	80
 SECÇÃO 5.3. DISCUSSÃO - DETERMINAÇÃO DOS CONSTITUINTES NUTRICIONAIS DO EUCALIPTO.....	 81
5.3.1. Humidade .....	81
5.3.2. Cinza .....	82
5.3.3. Proteína Bruta.....	82
5.3.4. Análise da fibra (NDF, ADF e ADL).....	84
5.3.5. Variação dos teores nutricionais e qualidade nutricional da folhagem.....	84
5.3.6. Conclusão e trabalhos futuros no âmbito da composição nutricional do eucalipto.....	85
  CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS.....	  87
  BIBLIOGRAFIA.....	  90
  ANEXOS.....	  95

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Distribuição aproximada da espécie <i>Phascolarctos cinereus</i> ( <i>adaptado</i> ).....	9
<b>Figura 2.</b> Koala alimentando-se de folhagem de eucalipto, um alimento pobre em energia e proteína, e rico em fibra e compostos tóxicos ( <i>Fotografia original</i> ).....	11
<b>Figura 3.</b> <b>A.</b> Vista geral de uma porção do arboreto de eucaliptos do Instituto Superior de Agronomia, donde provieram as folhas de eucalipto utilizado no estudo da observação do comportamento alimentar dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa. <b>B.</b> Recolha de rebentos de eucalipto, identificação e colocação de atilhos nos molhos, que foram depois transportados para o Jardim Zoológico. <b>C.</b> Molhos de eucalipto atados e identificados. ( <i>Fotografias originais</i> ).....	40

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Grupos de espécies de eucalipto fornecidas aos koalas.....	40
<b>Tabela 2.</b> Espécies de eucalipto e respetivas posições na instalação do macho Pintupi durante o período em que decorreram as observações do comportamento alimentar (Março e Junho de 2013). .....	42
<b>Tabela 3.</b> Espécies de eucalipto e respetivas posições na instalação do macho Moonan durante o período em que decorreram as observações do comportamento alimentar (Março e Junho de 2013).....	42
<b>Tabela 4.</b> Espécies de eucalipto e respetivas posições na instalação do grupo “Fêmeas” durante o período em que decorreram as observações do comportamento alimentar (Março de 2013).....	43
<b>Tabela 5.</b> Valores de <i>F</i> e <i>P</i> encontrados na análise de variância, com um nível de significância de 95%, da comparação entre o nível de preferências entre indivíduos / grupos para cada espécie de eucalipto.....	53
<b>Tabela 6.</b> Valores de <i>F</i> e <i>P</i> encontrados na análise de variância, com um nível de significância de 95%, dos níveis de preferências entre mês e ano, para cada espécie de eucalipto.....	54

<b>Tabela 7.</b> Média $\pm$ desvio padrão do consumo total (g) de cada espécie de eucalipto pelos koalas.....	59
--	----

<b>Tabela 8.</b> Valores médios e respetivo valor de desvio padrão dos teores de matéria seca, cinza e fibra neutro detergente (NDF) de 21 espécies de eucalipto.....	65
---	----

<b>Tabela 9.</b> Valores médios e respetivos valores de desvio padrão dos teores de ADF, ADL e proteína bruta de 21 espécies de eucalipto.....	66
--	----

## Lista de Tabelas – Anexos

<b>Tabela I.</b> Valores das médias ponderadas e dos respetivos erros-padrão do nível de preferências de cada indivíduo (Bamba, Kiwa, Moonan) ou grupo (Fêmeas, Fêmeas + Kiwa), para as espécies de eucalipto provenientes da Mata do Escaroupim. Dados relativos ao período compreendido entre 2008 e 2012.....	96
--	----

<b>Tabela II.</b> Valores das médias ponderadas e dos respetivos erros-padrão do nível de preferências de cada indivíduo (Kiwa, Moonan) ou grupo (Fêmeas), para as espécies de eucalipto provenientes do Instituto Superior de Agronomia. Dados relativos ao período compreendido entre Novembro de 2011 e Dezembro de 2012.....	98
--	----

<b>Tabela III.</b> Número de dados disponíveis sobre o nível de preferência para cada espécie de eucalipto, provenientes da Mata do Escaroupim e do Instituto Superior de Agronomia (ISA), relativos ao período compreendido entre 2008 e 2012.....	99
---	----

<b>Tabela IV.</b> Molhos de eucalipto fornecidos às três fêmeas (Bunyarra, Koomeela e Orana) no decorrer dos testes de cafetaria. Quantidade aproximada ingerida (em gramas) durante 24 horas e classificação do consumo pelos tratadores (escala de 0 a 4).....	100
--	-----

<b>Tabela V.</b> Molhos de eucalipto fornecidos ao koala do sexo masculino Pintupi no decorrer dos testes de cafetaria. Quantidade aproximada ingerida (em gramas) durante 24 horas e classificação do consumo pelos tratadores (escala de 0 a 4).....	101
--	-----

<b>Tabela VI.</b> Molhos de eucalipto fornecidos ao koala do sexo masculino Moonan no decorrer dos testes de cafetaria. Quantidade aproximada ingerida (g) durante 24 horas e classificação do consumo pelos tratadores (escala de 0 a 4).....	102
--	-----

<b>Tabela VII.</b> Exemplos de comportamentos (cheirar e ingerir folhagem / cheirar e não ingerir folhagem / ingerir sem cheirar a folhagem previamente) exibidos pelas fêmeas (Bunyarra,	
---	--

Koomeela e Orana) relativamente a alguns molhos de eucalipto utilizados nos testes de cafeteria.....	103
--	-----

<b>Tabela VIII.</b> Exemplos de comportamentos (cheirar e ingerir folhagem / cheirar e não ingerir folhagem / ingerir sem cheirar a folhagem previamente) exibidos pelo koala do sexo masculino Moonan relativamente a alguns molhos de eucalipto utilizados nos testes de cafeteria.....	104
---	-----

<b>Tabela XIX.</b> Classificação das reações (cheirar e ingerir folhagem / cheirar e não ingerir folhagem / ingerir sem cheirar a folhagem previamente) do koala do sexo masculino aos molhos de eucalipto utilizados nos testes de cafeteria.....	105
--	-----

## Lista de gráficos

<b>Gráfico 1.</b> Relação entre o consumo real e classificação do nível de ingestão pelos tratadores.....	50
---	----

<b>Gráfico 2.</b> Comparação dos níveis médios de preferências dos indivíduos/grupos de animais para as diversas espécies de eucalipto.....	52
---	----

<b>Gráfico 3.</b> Comparação dos níveis médios de preferências dos indivíduos/grupos de animais para as diversas espécies de eucalipto (continuação).....	52
---	----

<b>Gráfico 4.</b> Níveis médios de preferências apresentados pelos koalas para as várias espécies de eucalipto, provenientes da Mata do Escaroupim e do Instituto Superior de Agronomia. Eucalipto proveniente da Mata do Escaroupim.....	55
---	----

<b>Gráfico 5.</b> Níveis médios de preferências apresentados pelos koalas para as várias espécies de eucalipto, provenientes da Mata do Escaroupim e do Instituto Superior de Agronomia. Eucalipto proveniente do Instituto Superior de Agronomia.....	56
--	----

<b>Gráfico 6.</b> Variação dos níveis médios de preferências ao longo do ano de sete espécies de eucalipto.....	57
---	----

<b>Gráfico 7.</b> Minutos despendidos, em média, pelos koalas no consumo de folhagem de cada espécie de eucalipto.....	60
--	----

<b>Gráfico 8.</b> Consumo médio, em gramas, de cada espécie de eucalipto.....	60
<b>Gráfico 9.</b> Minutos despendidos, em média, por cada macho no consumo de cada espécie de eucalipto.....	61
<b>Gráfico 10.</b> Consumo médio, em gramas, de cada espécie de eucalipto, por cada koala do sexo masculino.....	62
<b>Gráfico 11.</b> Relação entre quantidade de folhagem ingerida e peso dos koalas.....	63

## Lista de Gráficos - Anexos

<b>Gráfico I.</b> Número médio de minutos despendidos, por cada koala do sexo feminino, na ingestão das várias espécies de eucalipto, durante os primeiros sessenta minutos em que novo alimento esteve disponível para consumo.....	106
<b>Gráfico II.</b> Consumo médio, em gramas, de folhagem, de cada espécie de eucalipto, pelo grupo constituído pelos koalas do sexo feminino.....	106
<b>Gráfico III.</b> Número médio de minutos despendidos, por cada koala do sexo feminino, na ingestão das espécies de eucalipto <i>E. propinqua</i> , <i>E. resinifera</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. saligna</i> , durante os primeiros sessenta minutos em que estiveram disponíveis para consumo.....	107
<b>Gráfico IV.</b> Comportamentos exibidos pelos koalas do sexo feminino, em minutos, durante os primeiros sessenta minutos em que as espécies <i>E. sideroxylon</i> , <i>E. viminalis</i> , <i>E. botryoides</i> e <i>E. globulus</i> estiveram disponíveis para consumo.....	107
<b>Gráfico V.</b> Número médio de minutos despendidos, por cada koala do sexo feminino, na ingestão das espécies de eucalipto <i>E. sideroxylon</i> , <i>E. viminalis</i> , <i>E. botryoides</i> e <i>E. globulus</i> , durante os primeiros sessenta minutos em que estiveram disponíveis para consumo.....	108
<b>Gráfico VI.</b> Comportamentos exibidos pelos koalas do sexo feminino, em minutos, durante os primeiros sessenta minutos em que as espécies <i>E. rudis</i> , <i>E. cinerea</i> , <i>E. maculata</i> e <i>E. cypellocarpa</i> estiveram disponíveis para consumo.....	108

**Gráfico VII.** Número médio de minutos despendidos, por cada koala do sexo feminino, na ingestão das espécies de eucalipto *E. rudis*, *E. cinerea*, *E. maculata* e *E. cypellocarpa*, durante os primeiros sessenta minutos em que estiveram disponíveis para consumo.....109

**Gráfico VIII.** Comportamentos exibidos pelos koalas do sexo masculino, em minutos, durante os primeiros sessenta minutos em que as espécies *E. propinqua*, *E. resinifera*, *E. grandis* e *E. saligna* estiveram disponíveis para consumo.....109

**Gráfico IX.** Comportamentos exibidos pelos koalas do sexo masculino, em minutos, durante os primeiros sessenta minutos em que as espécies de eucalipto *E. viminalis*, *E. botryoides*, *E. sideroxylon* e *E. globulus* estiveram disponíveis para consumo.....110

**Gráfico X.** Comportamentos exibidos pelos koalas do sexo masculino, em minutos, durante os primeiros sessenta minutos em que as espécies de eucalipto *E. rudis*, *E. cinerea*, *E. maculata* e *E. cypellocarpa* estiveram disponíveis para consumo.....110

**Gráfico XI.** Consumo médio de folhagem, em gramas, pelos koalas do sexo masculino (Março).....111

**Gráfico XII.** Consumo médio de folhagem, em gramas, pelos koalas do sexo masculino (Junho).....111



## Lista de Abreviaturas

ADF – *Acid Detergent Fibre* (Fibra Detergente Ácida)

ADL – *Acid Detergent Lignin* (Lenhina Detergente Ácida)

AGV – Ácidos Gordos Voláteis

CFF – Compostos Fluoroglucinóis Formilados

*E.* – *Eucalyptus*

ISA – Instituto Superior de Agronomia

MS – Matéria Seca

NDF – *Neutral Detergent Fibre* (Fibra Detergente Neutra)

PB – Proteína Bruta

N – Azoto

mm – milímetros

cm - centímetros





# Introdução

---

Os koalas são uma espécie icónica do continente australiano cujas populações em algumas regiões apresentam uma tendência decrescente. Alimentam-se maioritariamente de folhas de eucalipto, um alimento que se caracteriza por um baixo conteúdo nutritivo, por deter elevados teores de fibra e uma reduzida concentração proteica (DeGabriel, Moore, Marsh, & Foley, 2010). Este reduzido teor nutritivo encontra-se ainda associado a uma elevada concentração de metabolitos secundários, que além de reduzir a disponibilidade de nutrientes, provocam também toxicidade (Moore, Wallis, Palá-Paul, Brophy, Willis, & Foley, 2004). Os koalas desenvolveram adaptações para ultrapassar estas contrariedades e lidar com as dificuldades decorrentes de se alimentarem com um alimento hostil como é o eucalipto. Estas estratégias estendem-se a vários níveis: a nível metabólico (reduzidas taxas de metabolismo e um reduzido *turnover* de água), a nível comportamental (reduzidos níveis de atividade), a nível morfológico (dentição com múltiplas cúspides capaz de transformar a folhagem em pequenos fragmentos), e a nível fisiológico (trato gastrointestinal especializado, com um ceco de grande dimensão) (Higgins, Bercovitch, Tobey & Andrus, 2011).

Das mais de seiscentas espécies de eucalipto existentes, os koalas apenas se alimentam de cerca de 5% (Martin & Handasyde, 1999). O seu elevado grau de seletividade foi analisado em vários estudos (Ullrey, Robinson, & Whetter, 1981; Hindell, Handasyde, & Lee, 1985; Zoidis & Markowitz, 1992; Moore & Foley, 2000, Higgins *et al.*, 2011). Alguns destes estudos foram realizados através da observação de koalas em Jardins Zoológicos. Atualmente, a função dos jardins zoológicos não é apenas a exibição de animais exóticos ao público, mas também garantir a sobrevivência de espécies ameaçadas e contribuir para o aumento do conhecimento acerca das mesmas (Cheeke, 2005). O ambiente proporcionado por um Jardim Zoológico é o ideal para o estudo da ecologia da alimentação dos indivíduos da espécie *Phascolarctos cinereus*, pois, com o auxílio dos tratadores dos animais, é possível a determinação das preferências dos animais e da quantidade de folhagem consumida. Estes animais, por apenas se alimentarem de folhas frescas de eucalipto, apenas estão presentes em jardins zoológicos localizados em regiões onde árvores desta espécie estejam disponíveis. A maioria dos estudos desta natureza são originários da Austrália e dos Estados Unidos da América, pelo que este estudo vem dar um contributo para o conhecimento dos níveis de preferência dos koalas que vivem na nossa latitude.

Expõem-se neste documento, no primeiro capítulo, algumas informações sobre as características destes animais, relativas à sua fisiologia, taxonomia, distribuição e estado de conservação, dedicando-se ainda algumas páginas às características do seu alimento, o eucalipto, e o estado da arte atual sobre o tema da seletividade alimentar dos koalas, que pretendem contextualizar os trabalhos realizados no âmbito deste estudo. O trabalho prático realizado foi constituído por três partes complementares que obedeceram ao propósito da

avaliação da seletividade alimentar dos koalas. A primeira parte consistiu na análise estatística de dados recolhidos diariamente pelos tratadores sobre este tema, durante o período compreendido entre os anos de 2008 e 2012. A segunda parte consistiu na realização de testes de cafetaria, que tiveram como objetivo a determinação das espécies de eucalipto mais e menos selecionadas pelos koalas e a observação de determinados aspetos do comportamento alimentar da espécie. A terceira parte consistiu na análise dos componentes nutricionais em laboratório de amostras mensais do eucalipto fornecido aos koalas no período de Setembro de 2012 a Janeiro de 2013.

Espera-se que este trabalho possa ser um contributo para um melhor conhecimento sobre a seletividade alimentar dos koalas e colaborar para a otimização da alimentação dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa.



# Capítulo 1

## **Estado da arte**

---



## **SECÇÃO 1.1. TAXONOMIA, HISTÓRIA NATURAL, DISTRIBUIÇÃO E CONSERVAÇÃO DA ESPÉCIE *PHASCOLARCTOS CINEREUS***

---

### **1.1.1. Sumária descrição da espécie**

Os koalas são animais marsupiais de tamanho médio, de 5 a 13 quilos de peso vivo e 60 a 85 centímetros de comprimento, naturais da Austrália. A maioria dos koalas vive até cerca de dez a catorze anos, contudo há indicações de que alguns indivíduos atingiram os dezoito anos em estado selvagem (Martin & Handasyde, 1999). A pelagem dos koalas varia entre cinzento e castanho, sendo que os indivíduos das populações do norte da Austrália tendem a ser mais claros e de menor tamanho do que os indivíduos das populações do sul.

As fêmeas atingem a maturidade sexual aos dois anos de idade e normalmente dão à luz uma cria por ano. Como marsupiais, dão à luz uma cria no estado embrionário (Sharp, 1995), que sozinha alcança o marsúpio, ou bolsa, e se agarra a uma mama e aí completa o seu desenvolvimento, até cerca dos seis meses de idade (Martin & Handasyde, 1999).

Os koalas alimentam-se somente de folhas de eucalipto, um alimento pouco em energia e proteína e rico em fibra e compostos tóxicos. Estes animais contornam estas dificuldades fundamentalmente através de estratégias, adiante explicadas, que englobam a manutenção de reduzidas taxas de metabolismo e um sistema digestivo com características particulares. O estômago é relativamente pequeno quando comparado com o restante sistema digestivo, e é dotado de uma glândula gástrica, localizada na pequena curvatura do órgão, com cerca de 40 milímetros de diâmetro, cuja função é, presumivelmente, a secreção de suco gástrico no lúmen (Lee & Carrick, 1989). A característica mais notável no sistema digestivo do koala é a presença de um ceco cuja dimensão é notável (Harropa & Degabriel, 1976; Snipes, Snipes, & Carrick, 1993), e que é, em termos relativos, o maior de entre os mamíferos (Lee & Carrick, 1989). Ocupa, nos koalas, 19-23% do comprimento do trato intestinal pós-gástrico, o que contrasta com o valor de 10% obtido no mesmo estudo relativamente a coelhos e a indivíduos pertencentes à espécie *Trichosurus vulpecula* (Harropa & Degabriel, 1976). O cólon proximal apresenta igualmente uma grande dimensão (Snipes *et al.*, 1993), contudo atinge apenas metade do tamanho do ceco, continuado pelo cólon distal, que é mais estreito e é o local onde ocorre a formação dos *pellet* fecais (Lee & Carrick, 1989).

### **1.1.2. Classificação taxonómica**

Os koalas são mamíferos pertencentes à Ordem Diprotodontia e à família Phascolarctidae. Os indivíduos da Ordem Diprotodontia caracterizam-se por deter apenas um par de incisivos funcionais na mandíbula inferior, e por, no membro posterior, dois dos seus dedos estarem

unidos, num estado conhecido como “sindáctilo”. Da Ordem referida emergem as famílias Phascolartidae e Vombatidae, a que correspondem, respetivamente, os koalas e os vombates (em inglês, *wombats*). Os koalas são a única espécie viva pertencente à família Phascolarctidae, que engloba ainda cinco espécies extintas, divididas em quatro géneros, incluindo o género Phascolarctos (Lee & Carrick, 1989).

O nome científico da espécie, *Phascolarctos*, foi atribuído por Goldfuss em 1817, e deriva de dois termos gregos: “phaskolos” e “arktos”, que significam, respetivamente, “bolsa” e “urso”, aos que se adicionou um ano depois o termo latino “cinereus”, que significa cinzento (Martin & Handasyde, 1999).

### 1.1.3. História natural

A linhagem dos koalas surgiu há cerca de 25 milhões de anos e descendeu de um ancestral pertencente à ordem Diprotodont, atualmente extinta. Pensa-se que os animais pertencentes a esta ordem eram gigantes com características semelhantes aos vombates, sendo que a espécie de maior estatura pesaria cerca de duas toneladas. Os fósseis encontrados indicam que os koalas estavam distribuídos numa extensão geográfica bastante superior à atual, a sul e a este do continente australiano. A extinção nestes locais pode ter sido devida a vários fatores, como mudanças drásticas de clima e a eventual contribuição da chegada do ser humano ao continente, há cerca de 60 000 a 120 000 anos atrás (Martin & Handasyde, 1999).

Existem várias referências a esta espécie nas lendas aborígenes, que aludem às suas peculiaridades físicas, como a ausência de cauda, o intestino extremamente longo e a força dos seus membros anteriores e posteriores, e as consequências nefastas, relacionadas com o aparecimento de seca, caso não fossem respeitadas as tradições relacionadas com os koalas. Pensa-se que o termo que identifica o animal significa, em aborígine, “não bebe” (Sharp, 1995).

Curiosamente, esta espécie, apesar do seu tamanho relativamente grande, aparece mencionada nos registos históricos apenas no ano de 1798, referida como um animal “*which the natives called a cullawine, which much resembles the sloths in America*”. Em 1803 a espécie foi descrita de forma mais detalhada, referindo-se, entre outras características, que a sua alimentação “*consists solely of gum leaves [Eucalyptus globulus], in the choice of which it is excessively nice*” (Lee & Carrick, 1989).

A distribuição dos koalas aquando a chegada dos europeus ao continente australiano não é conhecida com rigor, sabendo-se apenas que era extremamente abundante no século XIX, tendo indivíduos da espécie sido vistos inclusivamente em áreas de floresta aberta (Melzer, Carrick, Menkhorst, Lunney, & John, 2000). Este aumento de abundância pode ter sido

devido ao declínio da caça pelos aborígenes e pela diminuição de predação pelos dingos, ou simplesmente fruto da expansão europeia no continente e do consequente aumento de visibilidade dos animais.

Contudo, esta tendência inverteu-se durante o final do século XIX e as primeiras décadas do século XX durante as quais o número de koalas sofreu um forte declínio, como consequência de épocas abertas de caça, surtos de doenças, fogos e destruição de *habitat*, até existirem somente populações muito reduzidas e isoladas em 1930. Todas as populações da região de South Australia se extinguíram até à década de 1920 (Melzer *et al.*, 2000; Lee & Carrick, 1989).

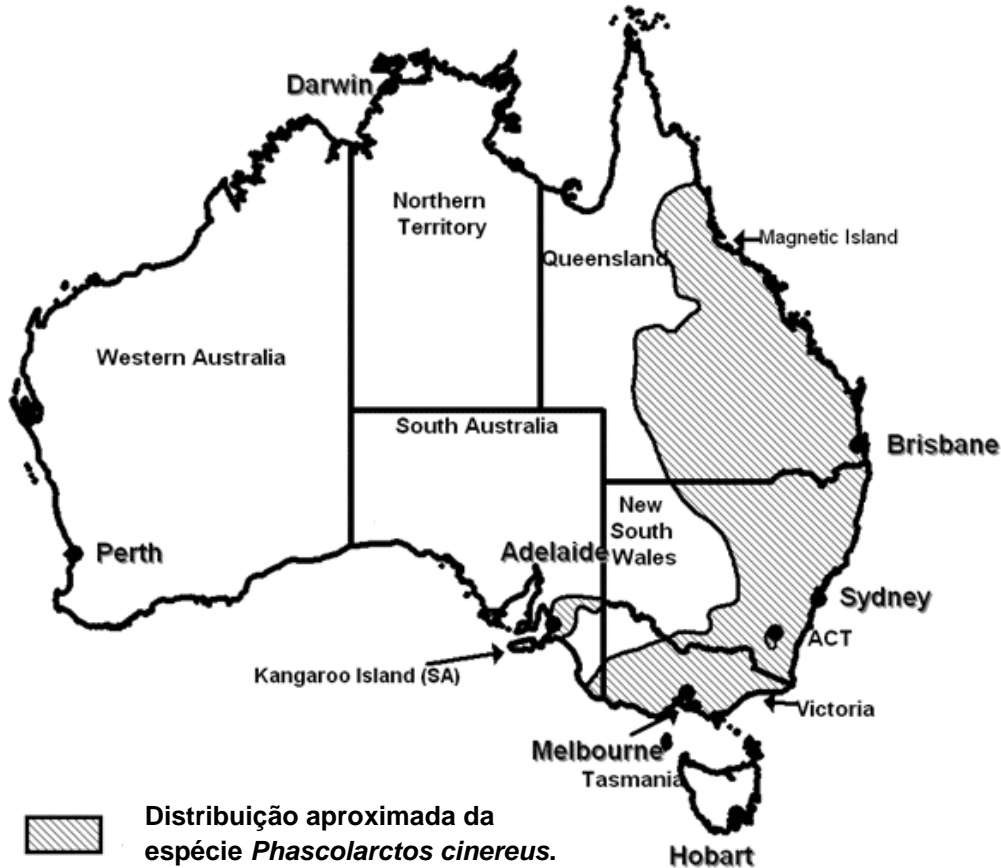
#### **1.1.4. Distribuição e abundância**

Os koalas estão naturalmente restritos às regiões da zona oriental do continente Australiano que contêm florestas com eucaliptos (Melzer *et al.*, 2000). Podem ser atualmente encontrados em regiões costeiras a sudeste e a nordeste, e um pouco mais no interior, nas áreas em que o clima é compatível com o crescimento do seu alimento. A distribuição dos koalas não é contínua, na medida em que existem populações isoladas, separadas por áreas de *habitat* impróprio, ocupadas atualmente por zonas de pastoreio e por indústrias agrícolas, pelo que a sua distribuição esparsa reflete, em grande medida, a distribuição das florestas australianas (Martin & Handasyde, 1999). Os koalas estão atualmente presentes no estado selvagem em quatro estados australianos: Queensland, New South Wales, South Australia e Victoria (Melzer *et al.*, 2000) (Figura 1). São mais frequentemente avistados na área sudeste de Queensland e na região nordeste de New South Wales, contudo as maiores densidades populacionais foram registadas em fragmentos de *habitat* em Victoria e New South Australia. A espécie foi reintroduzida em pelo menos doze ilhas, incluindo Kangaroo, Phillip e Magnetic, na região de Adelaide e ao longo do rio Murray. Após a introdução na ilha de Kangaroo ocorreu uma grande expansão da população, o que causou sérios danos ambientais. A espécie foi classificada, em 2001, no relatório da Commonwealth sobre o estado do ambiente, como uma das oito espécies consideradas como praga na Austrália (Gordon, Menkhorst, Robinson, Lunney, Martin, & Ellis, 2008).

#### **1.1.5. Conservação da espécie**

Apesar da classificação constante no relatório de 2001 acima mencionada, e da sobrepopulação de koalas em alguns locais, as populações, de um modo geral, têm vindo a decrescer. Por exemplo, na região de Queensland, a extensão de ocorrência e a área de

ocupação contraíram cerca de 30%. Numa tentativa de estimar as verdadeiras dimensões das populações, foram efetuados vários censos populacionais, quer a nível regional quer a nível nacional, tendo sido realizado o primeiro censo nacional em 1986 pelo Australian Governments National Parks's and Wildlife Service.



**Figura 1:** Distribuição aproximada da espécie *Phascolarctos cinereus* (adaptado). Dados compilados pela Australian Koala Foundation (2004). Dentro da área assinalada, o *habitat* encontra-se fragmentado. Fonte: <https://www.savethekoala.com/about-koalas/distribution>

A existência de informação detalhada nos locais de distribuição é importante, pelo que as agências de vida selvagem na maioria dos estados australianos mantêm bases de dados, com informação constantemente atualizada, sobre a fauna nativa. Além de aí constarem os dados obtidos no campo por biólogos, é incluída também informação resultante de observações feitas por indivíduos interessados pela vida selvagem. O facto de o koala ser uma espécie muito carismática, aliada às suas características físicas e comportamentais – é provido de um tamanho relativamente grande, não utiliza uma toca ou esconderijo e é visível durante o dia, permite que as bases de dados sejam enriquecidas com as visualizações feitas pelo público em geral (Martin & Handasyde, 1999). Contudo, Melzer *et al.* (2000) consideram que as estimativas regionais, estatais e nacionais acerca do tamanho das populações são insuficientes e pouco consistentes. O estado de conservação do koala é

definido por legislação distinta em cada estado australiano e a sua classificação varia na área de distribuição da espécie (Melzer *et al.*, 2000), o que certamente não facilita uma estratégia integrada e aplicada a nível nacional, de forma a contrariar a tendência decrescente dos tamanhos populacionais.

Atualmente, o estado de conservação da espécie está classificado na Lista Vermelha das espécies ameaçadas da União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais como Pouco Preocupante (versão 3.1.). Esta classificação justifica-se pela grande distribuição da espécie, e porque se considera pouco provável que as populações estejam a decrescer à taxa requerida para a espécie ser classificada como ameaçada. Esta espécie varia acentuadamente no tamanho das populações e nas densidades, e requer uma gestão intensiva nas áreas onde é considerada uma praga, assim como nas regiões onde a população se encontra em declínio (Gordon *et al.*, 2008). Atualmente, as maiores ameaças à espécie são a perda de *habitat*, seguida por seca, incêndios, doenças (principalmente por infeções por *Chlamydia* spp), predação e colisões com veículos (Melzer *et al.*, 2000).

As ações de conservação recomendadas incluem, entre outras, a implementação de uma estratégia nacional para a conservação do koala, atualmente em fase de projeto, a realização de pesquisas regionais e dos locais de distribuição das populações, a avaliação de preferências de árvores e identificação de áreas de *habitats* críticos para a conservação, e a dinamização do envolvimento da comunidade na conservação e gestão da espécie (Gordon *et al.*, 2008).

## **SECÇÃO 1.2. SELETIVIDADE ALIMENTAR DOS KOALAS**

---

Os koalas, por apenas ingerirem matéria vegetal proveniente de eucalipto, e de nem todas as espécies do mesmo, são considerados especialistas (Cork, Hume, & Dawson, 1983). Alimentam-se principalmente de folhas e rebentos, mas também de flores e cápsulas (Lee & Carrick, 1989), que complementam com sais minerais do solo e da casca das árvores de eucalipto (Moore, Foley, Wallis, Cowling, & Handasyde, 2005) (Figura 2). Existem outros marsupiais herbívoros cuja alimentação integra eucalipto, contudo apenas os koalas e a espécie *Petaurides volans* são considerados especialistas.

O nível de ingestão de um alimento por determinado indivíduo é influenciado pela palatabilidade, que se define como a soma das componentes de sabor, de olfato e textura de um alimento (Cheeke, 2005). O paladar representa um papel determinante no grau de aceitação de um alimento, contudo as respostas ao sabor de um alimento variam: por

exemplo, os herbívoros, nomeadamente os koalas, são bastante tolerantes a substâncias amargas, uma vez que muitos dos compostos secundários presentes nas plantas possuem essa característica. Os fatores que influenciam a palatibilidade de um alimento são os nutrientes, a fibra e os compostos secundários. Estes são aquelas substâncias que não estão diretamente envolvidas nos processos primários do metabolismo celular, mas que desempenham outras funções, como por exemplo de defesa, como são exemplo os alcalóides, os compostos cianogénicos e os taninos, entre outros. Perante as defesas químicas das plantas, os herbívoros desenvolveram mecanismos para as ultrapassar, através, por exemplo, de enzimas que degradam substâncias que de outra forma seriam nocivas. Estas interações entre plantas e animais são conhecidas como co-evolução (Cheeke, 2005).



**Figura 2:** Koala alimentando-se de folhagem de eucalipto, um alimento pobre em energia e proteína, e rico em fibra e compostos tóxicos. *Fonte: fotografia original.*

Perante a variação da palatibilidade e da qualidade nutricional existente na folhagem de eucalipto, os koalas selecionam a folhagem baseados em decisões que não foram compreendidas, do ponto de vista científico, ao longo de muitos anos. Para averiguar que fatores influenciam as decisões alimentares dos koalas tem sido desenvolvida muita investigação.

Se alguns estudos se focaram nas preferências por algumas espécies de eucaliptos, outros salientaram a importância da determinação das características nutricionais do alimento, e de que modo a folhagem palatável se diferencia quimicamente da folhagem menos palatável

(Moore & Foley, 2000). Seguem-se exemplos da investigação desenvolvida nas últimas décadas.

### **1.2.1. A seletividade alimentar dos koalas como ponto de interesse dos investigadores ao longo do século**

Segundo Moore e Foley (2000), existem várias referências, ao longo dos séculos passados, relativas à alimentação dos koalas: um documento datado de 1830 refere que os koalas se alimentavam apenas de folhas de eucalipto; mais tarde, koalas foram observados a ingerir ou a permanecer em cento e vinte espécies diferentes de eucalipto; durante a *National Koala Survey*, que decorreu em 1985-86, foi observado que os koalas permaneceram, ou ingeriram folhas de sessenta e nove espécies de eucalipto e de quase trinta espécies de não-eucaliptos; e ainda outro autor identificou cinquenta e cinco espécies de eucalipto reconhecidas como pertencentes à dieta dos koalas, dezoito das quais foram consideradas como elementos principais da dieta. Assim, a diversidade taxonómica das espécies disponíveis para a alimentação dos koalas aparentava, na altura, ser considerável. Segundo os mesmos autores, vários estudos referiram a presença, ainda que em pequenas proporções, de espécies de não eucaliptos na dieta. Exemplo disso é o relato da inclusão da espécie *Melaleuca quiquinervia* na dieta dos koalas de Point Halloran até ao limite de 7%. Contudo, a maioria dos estudos sobre os hábitos alimentares dos koalas concluiu que os mesmos se alimentam predominantemente de uma ou algumas espécies de eucaliptos presentes em determinado local. Atualmente, face ao elevado número de espécies arbóreas que é sabido constarem da dieta dos koalas, reconhece-se que a alimentação dos koalas é menos seletiva do que anteriormente se pensava. De facto, não é, de todo, surpreendente que os koalas ingiram folhas de tantas espécies diferentes, uma vez que os mesmos não selecionam a sua dieta com base na taxonomia. Pelo contrário, espera-se que um koala ingira qualquer folhagem com uma morfologia apropriada e com características químicas que sejam reconhecidas como alimento palatável (Moore & Foley, 2000).

### **1.2.2. Os desafios alimentares enfrentados pelos koalas: fatores que influenciam a seletividade alimentar**

#### **1.2.2.1. Variação sazonal**

Moore e Foley (2000) procederam a uma exaustiva investigação das informações relativas à variação sazonal da seletividade alimentar exibida pelos koalas e relatadas na literatura, e referem que a variação sazonal da seleção de *Eucalyptus viminalis* já havia sido referida nos

anos quarenta. Enquanto uns autores referiram que *E. viminalis* foi a espécie preferida pelos koalas do Zoo de Melbourne durante todas as estações do ano exceto no Inverno, outro refere que os koalas do Healesville Sanctuary selecionavam *E. viminalis* durante todo o ano. Já os koalas de Kangaroo Island selecionavam *E. viminalis* no Inverno, ao invés dos koalas de Brisbane Ranges, que preferiam *E. viminalis* durante o Outono, Verão e Primavera, sendo que no Inverno preferiam *Eucalyptus ovata*. Segundo ainda os mesmos autores, a preferência por *Eucalyptus globulus* dos koalas sob cuidados humanos em Western Australia aumentava nos meses de Fevereiro e Março (Moore & Foley, 2000).

As variações de preferências verificadas podem ser devidas a fases de maior crescimento das folhas, que ocorrem sazonalmente em todo o *habitat* do koala. Contudo, nem sempre se verifica que as folhas jovens sejam mais selecionadas do que as folhas adultas. É possível que as mudanças sazonais estejam associadas não com as características físico-químicas das folhas mas com as mudanças sazonais na fisiologia do koala e com as diferentes necessidades associadas à termorregulação (Moore & Foley, 2000).

#### **1.2.2.2. Variação regional**

A preferência por determinada espécie de eucalipto pode variar de acordo com a região (Hume, 2005). A maioria dos estudos que analisou este tema foi realizada, por razões óbvias, na Austrália, envolvendo populações de koalas no seu *habitat* natural. Segundo Moore e Foley (2000), se alguns estudos na região de Victoria demonstraram que a espécie *E. viminalis* era a eleita, outro estudo demonstrou que os koalas de Phillip Island preferiam *E. globulus*, apesar da disponibilidade da primeira. Estas diferenças podem ser devidas à variação regional, quantitativa e/ou qualitativa, de compostos foliares dissuasores da ingestão. Além disso, as respostas que os koalas apresentam às diferentes condições ambientais podem variar de acordo com o local. Efetivamente, são notáveis as diferenças morfológicas que os koalas apresentam, dependendo do local de onde são originários, podendo existir também diferenças nas suas necessidades nutricionais e na sua capacidade de tolerar os metabolitos secundários das plantas.

Apesar de não se compreender, na totalidade, os aspetos da fisiologia dos koalas que podem variar de forma a explicar as diferenças regionais, alguns aspetos da composição química foliar que influenciam a palatabilidade podem contribuir para a compreensão de algumas das diferenças observadas (Moore & Foley, 2000).



### 1.2.2.3. Variação intraespecífica

Existem vários estudos que demonstram que os koalas preferem determinadas árvores, dentro de uma mesma espécie, em detrimento de outras. Algumas investigações referem que os koalas no seu *habitat* natural preferem árvores de grande porte, pelo que os atributos estruturais das árvores poderiam explicar a diferença de seletividade. Contudo, observou-se que koalas sob cuidados humanos também demonstram preferências por folhas de diferentes árvores de uma mesma espécie. Esta observação sugere que a composição foliar é importante e que pode variar dentro da mesma espécie (Moore & Foley, 2000).

### 1.2.2.4. Importância da maturação foliar

Os koalas não selecionam a qualidade da folhagem de cada árvore individualmente, mas sim de cada ramo em particular. Quando se alimentam, os koalas avaliam cada ramagem, de forma a decidir se aceitam ou rejeitam a mesma (Moore & Foley, 2000). Uma causa de variação da palatabilidade da folhagem é o estado de maturação da folha: vários autores notaram que os koalas preferem folhas mais jovens quando as mesmas estão disponíveis; contudo, apesar do elevado número de estudos que o referem, a preferência por folhas jovens não aparenta ser universal para todas as árvores. Os koalas rejeitam as folhas jovens de árvores juvenis, especialmente de *E. viminalis*, e que apesar de os koalas ingerirem preferencialmente folhas jovens no início da refeição, ingerem grandes quantidades de folhas adultas no decorrer da mesma. Analisou-se, durante o período de um ano, a contribuição de folhas jovens e de folhas adultas na dieta dos koalas e verificou-se que a folhagem jovem apenas representou 5-35% da dieta de quatro machos, representando a folhagem madura a maior parte, 50-90% (Moore & Foley, 2000). Também Cork (1996) refere que os koalas se alimentam principalmente de folhagem madura. Moore e Foley (2000) salientam que os koalas sob cuidados humanos têm acesso a grandes proporções de folhas jovens, e que a mesma quantidade poderá não estar tão facilmente acessível a koalas em liberdade. Não existem razões evidentes que levem os koalas a selecionarem mais folhas jovens do que folhas adultas. Apesar de as folhas jovens conterem, geralmente, uma maior abundância de azoto e água e menor de fibra do que as folhas maduras, estas contêm igualmente maior quantidade de compostos fenólicos, que detêm propriedades potencialmente tóxicas.

---

## **SECÇÃO 1.3. FOLHAGEM DE EUCALIPTO - CLASSIFICAÇÃO TAXONÓMICA, CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS E ANTI-NUTRICIONAIS**

---

### **1.3.1. Classificação taxonómica e diversidade das características morfológicas**

Existem mais de seiscentas espécies de eucalipto, que variam em termos de forma. O nome “eucalyptus” foi atribuído em 1788 pelo botânico francês Charles Louis L'Héritier, a partir das raízes gregas *eu* e *calyptos*, que significam, respetivamente, “bem” e “coberto”, em alusão ao opérculo, que se encontra coberto (Goes, s/d).

A classificação taxonómica do eucalipto tem sofrido numerosas atualizações, o que gera, eventualmente, alguma confusão na literatura. O estudo mais recente resulta de investigações moleculares e morfológicas, que identificou duas linhagens principais, dentro da família Myrtaceae: uma delas inclui *Angophora* e *Corymbia*, e a outra inclui os subgéneros de *Eucalyptus*. Os subgéneros são Eudesmia, Symphyomyrtus, que engloba mais de 500 espécies, e Monocalyptus, com cerca de 130 espécies (Moore, Wallis, Marsh, & Foley, 2004). As espécies que integram a alimentação dos koalas são maioritariamente pertencentes ao segundo grupo – Symphyomyrtus, localizando-se principalmente em regiões chuvosas da Austrália. Estas regiões apresentam solos férteis e com uma maior quantidade de azoto (N) disponível do que as regiões onde se encontram árvores dos grupos Eudesmia e Monocalyptus (Wallis, Nicolle, & Foley, 2010; Külheim, Yeoh, Wallis, Laftan, Moran & Foley, 2011).

A identificação das espécies de eucalipto não se revela uma tarefa simples, na medida em que, além do elevado número de espécies existente, é necessário ter em conta a considerável variabilidade encontrada entre as mesmas e a possibilidade de formação de híbridos. A identificação da espécie é frequentemente apenas possível no terreno, uma vez que é necessário integrar a informação advinda da forma das folhas (que se distribuem em catorze tipos de formas, sensivelmente), do tipo de cápsulas, das características das folhas juvenis e da casca (Brooker & Keinig, 1999).

### **1.3.2. Composição química das folhas de eucalipto**

A grande variedade a nível morfológico referida reflete-se numa marcada variação a nível das características químicas das folhas de eucalipto, que são influenciadas por fatores ambientais, como a disponibilidade de nutrientes e a quantidade de luz no local, e por

fatores de ordem genética, que estão normalmente relacionados com o nicho ecológico das espécies (Loney, McArthur, Sanson, Davies, Close & Jordan, 2006; Millner & Kemp, 2011). A folhagem de eucalipto é considerada nutricionalmente pobre, na medida em que apresenta reduzidos níveis de proteína e energia e altos níveis de fibra (Moore, 2006). É ainda dotada de metabolitos secundários, compostos cuja ingestão tem como consequências toxicidade – como os terpenos, os glicosídeos cianogénicos e os compostos de floroglucinol formilados (CFF), ou a perda de determinados nutrientes – como os taninos (DeGabriel *et al.*, 2010).

#### **1.3.2.1. Características nutricionais do eucalipto**

Inicialmente, a investigação dos fatores que influenciam a seletividade alimentar dos koalas focou-se na composição nutricional das folhas de eucalipto. Alguns estudos analisaram fatores nutricionais, como o azoto, os lípidos, ou os açúcares, e outros investigaram fatores anti-nutricionais, ou tóxicos, incluindo taninos condensados e hidrolisáveis, compostos fenólicos, fibra, terpenos e glicosídeos cianogénicos (Moore *et al.*, 2005; Moore & Foley, 2000). Segue-se uma descrição sumária do estado da arte atual sobre o tema.

##### **1.3.2.1.1. Teor de Energia**

Além de conter baixos níveis de proteína, a folhagem de eucalipto contém níveis baixos de energia metabolizável, o que dificulta a determinação de qual dos dois parâmetros – proteína ou energia metabolizável – limita, em primeiro lugar, a dieta destes marsupiais. A concentração de proteína e a concentração de energia estão relacionadas: à medida que a folha envelhece, a proporção de matéria estrutural, que é rica em fibra e pobre em azoto e energia, aumenta. Portanto, através da seleção de folhagem jovem, o indivíduo aumenta a ingestão tanto de energia como de proteína. Ao contrário do azoto, não existe uma forma simples e consistente de medir o conteúdo de energia disponível da folhagem: apesar de a energia total, ou energia bruta, não variar consideravelmente, a energia digerível apresenta uma ampla variação. A medição da ingestão da energia digerível é um processo moroso que implica a utilização de animais em cativeiro, contudo pode produzir alguns resultados interessantes. O conteúdo em energia metabolizável das espécies de eucalipto pode variar até 47 %, variação essa que pode dever-se à natureza e digestibilidade dos hidratos de carbono estruturais (Moore *et al.*, 2004a).

Os açúcares presentes na folhagem também foram analisados como estando potencialmente implicados na seletividade. Evidenciou-se que as espécies mais selecionadas por koalas sob cuidados humanos no Japão possuíam monossacáridos, mas não dissacáridos e trissacáridos, contudo, o autor não logrou demonstrar uma correlação

significativa entre o nível de açúcares e as preferências alimentares dos koalas (Osawa, Walsh & Cork, 1993). Contudo, segundo Ullrey *et al.* (1981), a folhagem mais selecionada por koalas apresentou menores concentrações de energia bruta, fibra, cálcio, ferro e selênio, e concentrações superiores de proteína bruta, fósforo e potássio.

As concentrações dos açúcares solúveis podem variar tanto entre espécies como dentro de uma mesma espécie. Os eucaliptos que crescem em áreas frias desenvolveram uma adaptação ao gelo através do aumento das concentrações celulares de açúcares solúveis, o que sugere uma ligação entre a concentração dos componentes foliares e o ambiente (Moore *et al.*, 2004b).

#### **1.3.2.1.2. Teor de água**

O teor de humidade da folhagem foi outro dos parâmetros considerados como potencialmente implicados na seletividade alimentar. Hume e Esson (1993) propuseram um limiar de humidade presente na folhagem de 55% para esta ser selecionada por koalas. Contudo, segundo Moore e Foley (2000), quando existe água disponível, por exemplo na forma de orvalho, a humidade da folhagem não é provavelmente determinante na seletividade alimentar dos koalas.

A população de koalas da ilha de St Bees registou uma elevada taxa de mortalidade (83%) durante um período de seca em que a humidade da folhagem decresceu abaixo de 51%, o que sublinha a importância de um teor de humidade mínimo na folhagem para a sobrevivência dos koalas (Clifton, 2010).

#### **1.3.2.1.3. Teor de proteína bruta**

DeGabriele (1981, 1983), baseando-se fundamentalmente nas descobertas de Ullrey *et al.*, (1981), propôs que o azoto (N) seria o fator de influência limitante na abundância do koala e que os koalas selecionam a folhagem com base num conteúdo de fibra baixo, que está frequentemente correlacionado com altos conteúdos foliares de azoto. Hume e Esson (1993) referem que a folhagem mais selecionada se caracterizou por rácios de azoto/fibra e azoto/taninos superiores àqueles da folhagem menos selecionada. Cork (1986) estimou que os koalas são capazes de manter um balanço de azoto positivo alimentando-se apenas de folhagem contendo 1,1% de N total, encontrando-se o valor crítico perto de 1%. Esta concentração encontra-se no limiar mínimo da concentração de azoto foliar da folhagem de eucalipto, pelo que se considera que a concentração de N, por si só, apenas raramente poderia restringir a seletividade, à exceção das fêmeas lactantes (Moore *et al.*, 2004; Moore & Foley, 2000).

Contudo, é importante referir que a concentração de N total pode não ser um indicador fiável da concentração de N disponível, pois este é uma combinação de N total, da digestibilidade e da ligação de N a taninos (Wallis *et al.*, 2010). A capacidade de os taninos reduzirem a quantidade de proteína disponível será mais adiante explicada.

Apesar de estes estudos se basearem em medições de azoto total, segundo DeGabriel *et al.*, (2002, 2010), os marsupiais folívoros, à exceção dos indivíduos da espécie *Pseudocheirus peregrinus*, que praticam cecotrofia, não são capazes de utilizar o azoto elementar diretamente e, por isso, têm necessidades de ingestão de aminoácidos. Contudo, tendo em linha de conta que a folhagem de eucalipto contém uma alta proporção de aminoácidos livres, assume-se que se a folhagem contém proteína suficiente, também conterá quantidade suficiente de aminoácidos para suprir as necessidades dietéticas dos marsupiais (Moore *et al.*, 2004).

Se a concentração de azoto é importante na seletividade alimentar, os koalas, presumivelmente, ou i) selecionam a folhagem baseando-se noutro componente como, por exemplo, os metabolitos secundários, recebendo depois o *feedback* pós ingestão sobre o azoto, ii) utilizam uma “regra de ouro”, como “selecionar sempre folhagem jovem de determinadas espécies” para selecionar consistentemente a folhagem com maior concentração de azoto, iii) utilizam outra propriedade da folhagem que se encontra correlacionada com a concentração de azoto (como por exemplo a fibra ou um composto secundário) para determinar se os níveis de azoto são adequados (Moore & Foley, 2000).

#### **1.3.2.2. Características anti-nutricionais do eucalipto**

A discussão realizada até este ponto analisou de que forma as concentrações nutricionais foliares influenciam a dieta dos marsupiais folívoros. Contudo, a seletividade alimentar dos koalas não pode ser analisada sem se considerar as propriedades anti-nutricionais e tóxicas da folhagem, particularmente os metabolitos secundários das plantas. Os metabolitos secundários são compostos químicos produzidos pelas plantas, que não desempenham um papel nos processos metabólicos primários. Por exemplo, muitos metabolitos secundários defendem as plantas dos herbívoros atuando como toxinas ou reduzindo a qualidade nutricional da folhagem. Os eucaliptos são dotados de uma grande diversidade de metabolitos secundários, que agem de múltiplas formas. Se uns, como os glicosídeos cianogénicos e os compostos floroglucinois formilados, limitam a ingestão de folhas de determinadas árvores, outros, como os taninos, podem reduzir a qualidade nutricional da folhagem. Deste modo, a qualidade nutricional de um *habitat* pode ser fortemente influenciada pelos tipos e concentrações de metabolitos secundários presentes na folhagem de eucalipto, ao invés de ser influenciada apenas pelas propriedades dos nutrientes. Esta

informação é fundamental pois as diferenças de seletividade demonstradas pelos marsupiais herbívoros, e em especial pelos koalas, podem refletir a capacidade dos mesmos em lidar com os metabolitos secundários presentes na dieta e simultaneamente adquirir os nutrientes indispensáveis para a sua sobrevivência (Moore *et al.*, 2004a).

#### 1.3.2.2.1. Terpenos

As primeiras discussões acerca do papel da composição química foliar na seletividade alimentar dos koalas focaram-se nos óleos essenciais presentes no eucalipto (Moore & Foley, 2000). Provavelmente, o forte odor característico dos óleos essenciais e a sua toxicidade para outros animais provocaram a suspeita de que estes poderiam afetar a seletividade alimentar dos folívoros marsupiais (Moore *et al.*, 2004a). Os óleos essenciais são misturas complexas de diferentes concentrações de vinte a sessenta componentes, em que dois ou três deles se encontram em concentrações bastante superiores (Bakkali, Averbeck, Averbeck, & Idaomar, 2008). Os óleos essenciais contêm uma fração volátil, que confere às diferentes espécies de eucalipto um cheiro característico, na qual se integram os terpenos e os terpenóides, entre outros (Bakkali *et al.*, 2008). Os terpenos são constituídos por diferentes combinações de várias unidades com cinco carbonos, apelidadas de isopreno ( $C_5$ ). Os principais terpenos são os monoterpenos ( $C_{10}$ ) e os sesquiterpenos ( $C_{15}$ ). Não existem estudos que, claramente, relacionem a quantidade total de terpenos e as preferências dos marsupiais folívoros, contudo, foi encontrada uma correlação negativa, ainda que fraca, entre o conteúdo de sesquiterpenos (fração dos terpenos totais) das folhas e a preferência de folhas de *E. globulus* (Moore *et al.*, 2004a; Moore & Foley, 2000). Segundo Hume e Esson (1993), a folhagem mais selecionada possui uma maior proporção de monoterpenos voláteis e uma menor proporção de sesquiterpenos.

O monoterpeno dominante na maioria das espécies de eucalipto, 1,8-cineole, tinha sido previamente investigado como possível agente dissuasor da ingestão noutros estudos de alimentação de mamíferos (Lawler, Eschler, Pass, & Handasyde, 1998a). Se alguns estudos realizados relativos à seletividade alimentar foram incapazes de demonstrar relações claras entre níveis de intensidade de ingestão por parte de marsupiais herbívoros e o conteúdo das folhas, quer de metabolitos primários quer de metabolitos secundários, o estudo realizado por Lawler *et al.*, (1998a) forneceu algumas conclusões. Este estudo teve por objetivo averiguar a relação entre a presença na folhagem de 1,8-cineole, entre outros compostos, com o nível de ingestão demonstrado por marsupiais herbívoros. Os autores observaram que o composto 1,8-cineole apresentou efeitos inibidores da ingestão, mas que estes foram apenas visíveis em concentrações significativamente superiores às aquelas encontradas em folhagem intacta, e do que aquelas que foram encontradas num variado leque de árvores de eucalipto analisadas (Lawler *et al.*, 1998a). Os efeitos inibidores da molécula de 1,8-cineole

foram igualmente observados por Pass, Foley e Bowden (1998), que reportaram que indivíduos da espécie *Pseudocheirus peregrinus*, quando confrontados com uma dieta rica em 1,8-cineole e uma dieta livre da substância, selecionaram a última, mas ingeriram uma dieta com 0,8% de 1,8-cineole quando apenas esta estava disponível. Mais recentemente, demonstrou-se, num estudo em que indivíduos da mesma espécie foram alimentados com folhagem de *Eucalyptus polyanthemus* e *Eucalyptus sideroxylon*, que a quantidade de folhagem ingerida foi inversamente proporcional à concentração de terpenos, particularmente 1,8-cineole (Lawler, Foley & Eschler, 2000). A investigação que se seguiu demonstrou que o 1,8-cineole não é o agente dissuasor primário, mas que a sua concentração se encontra correlacionada com a concentração de compostos altamente dissuasores da ingestão, os compostos de floroglucinol formilados (CFF), cuja ação será adiante esclarecida. A abundância da folhagem em 1,8 cineole é altamente variável, com valores de 1,4 a 77,6% relativamente à média na espécie *E. sideroxylon* (Seabra & Ferreirinha, 1960).

#### 1.3.2.2.2. Taninos

Os taninos são compostos fenólicos que ocorrem em várias espécies de plantas e que encerram uma multiplicidade de potenciais efeitos negativos, nomeadamente a redução da digestibilidade aparente dos nutrientes através da interferência com processos de fermentação bacteriana, através da ligação a enzimas digestivas e a redução da palatabilidade de muitas plantas (Clauss, 2003). Além de terem propriedades tóxicas, reduzem a disponibilidade de nutrientes, através da ligação a proteínas presentes na folhagem, formando complexos que aparentam ser resistentes à degradação no intestino dos mamíferos (Cork, 1996; Osawa *et al.*, 1993). Apesar da diversidade de efeitos tóxicos acima mencionada, os taninos também encerram efeitos benéficos, pois podem atuar como antioxidantes e diminuir a carga de helmintes e bactérias patogénicas gastrointestinais (Clauss, 2003).

A classificação, baseada na estrutura, divide os taninos em dois grupos: taninos hidrolisáveis, que contêm um núcleo central de hidratos de carbono (por exemplo glucose), esterificados por compostos fenólicos; e taninos condensados, que são estruturalmente mais complexos, não são hidrolisáveis e não contêm hidratos de carbono (Osawa *et al.*, 1993). Os taninos hidrolisáveis podem ser absorvidos pelo animal e causar efeitos tóxicos. Considerando o nível reduzido de proteína característico do eucalipto, a capacidade de os taninos reduzirem a quantidade de proteína disponível é um fator a considerar. Verificou-se que os koalas apenas digeriram 45% do azoto da folhagem de *E. punctata*, devido à atividade dos taninos (Cork *et al.*, 1983). Observou-se que o comportamento alimentar de

indivíduos marsupiais herbívoros da espécie *Trichosurus vulpecula* foi influenciado pelos taninos, pois estas substâncias causaram diminuições na quantidade de folhagem de *E. melliodora* ingerida. Os mesmos indivíduos ingeriram mais folhas de eucalipto e a digestibilidade do material da parede celular aumentou quando a folhagem foi tratada com polietilenoglicol, uma substância que inativa os taninos (Marsh, Wallis & Foley, 2003; Foley & Hume, 1987). Também Hume e Esson (1993) detetaram um possível efeito negativo dos taninos ao verificar que a folhagem mais selecionada por koalas continha um nível reduzido de taninos condensados. Contudo, este aparente efeito negativo dos taninos não foi confirmado por Lawler *et al.*, (1998a), que não encontraram relação entre o nível de ingestão de marsupiais folívoros e a concentração de taninos condensados. É possível que a propriedade referida dos taninos não afete consideravelmente a seletividade alimentar dos koalas, uma vez que a sua microflora intestinal é capaz de degradar os complexos proteína-taninos (Osawa *et al.*, 1993). Contudo, os mecanismos exatos subjacentes a este processo permanecem por determinar.

#### **1.3.2.2.3. Glicosídeos cianogénicos**

O composto prunasina, um tipo de glicosídeo cianogénico, está presente na folhagem de mais de trinta espécies de eucalipto. Quando os indivíduos mastigam e ingerem folhas destas árvores, produz-se cianeto de hidrogénio, uma potente toxina respiratória. A capacidade cianogénica do eucalipto varia entre espécies e entre estações. Os indivíduos da espécie *Trichosurus vulpecula* são capazes de reconhecer e evitar a ingestão desta substância, ao contrário do que, aparentemente, sucede relativamente aos koalas - a toxina respiratória esteve implicada na morte de um grande número de koalas no Jardim Zoológico de Melbourne, na década de 1930 (Moore *et al.*, 2004a).

#### **1.3.2.2.4. Compostos Floroglucinois Formilados (CFF): os principais determinantes da seletividade alimentar**

Entre as árvores pertencentes ao género *Symphyomyrtus*, a variável mais importante na determinação da ingestão dos marsupiais folívoros é a concentração de CFF (Moore *et al.*, 2004b), um grupo de metabolitos secundários que são únicos dos eucaliptos (Külheim *et al.*, 2011).

##### **1.3.2.2.4.1. Estrutura molecular**

Os CFF são um grupo de metabolitos secundários cuja estrutura molecular é composta por um anel de benzeno com um grupo hidroxil (-OH) e um grupo formil (-CHO), sendo que a maioria contém ainda cadeias de terpenos associadas (Moore *et al.*, 2004a). Os CFF



possuem, caracteristicamente, uma atividade dissuasora da ingestão, que se julga ser devida aos grupos formil presentes nestes compostos (Moore *et al.*, 2004b). Existem vários tipos de CFF, que variam de acordo com o número de grupos formil, como são exemplo os compostos jensenal, que apenas possui um grupo formil, os macrocarpais, dos grupos I e II, que possuem dois grupos formil, e o sideroxilonal, que possui quatro grupos formil (Moore *et al.*, 2004b).

A chave para o sucesso da identificação do papel na seletividade alimentar dos CFF foi a análise da variação dos compostos referidos entre árvores individuais e a medição de compostos químicos específicos, ao invés de grupos de compostos, uma vez que estas substâncias, devido à variação na estrutura, variam na potência de dissuasão de ingestão. Os seus efeitos dissuasores da ingestão não tinham sido ainda detetados pois os ensaios *standard* utilizados para a medição dos compostos fenólicos totais usavam solventes polares, que não extraem compostos fenólicos não polares como os CFF (Moore & Foley 2000). Pass *et al.*, (1998) identificaram em *E. ovata* um composto floroglucionol formilado (CFF), o macrocarpal G, como sendo o responsável pela resistência à ingestão de determinada folhagem por indivíduos da espécie *Pseudocheirus peregrinus*. Os animais regularam a ingestão de folhagem de eucalipto de forma a não ingerir mais de, aproximadamente, 200 mg de macrocarpal G. Lawler *et al.*, (1998a) demonstraram que a variação da ingestão de folhagem se encontrava proximamente relacionada com as concentrações de compostos CFF e do terpeno 1,8-cineole. Evidenciaram ainda que outro tipo de CFF, a jensenona, um composto quimicamente similar ao macrocarpal G, atua através da ativação da resposta emética. Esta foi uma importante descoberta que será mais adiante explicada.

Apesar de encontradas importantes relações entre os metabolitos 1,8-cineole, macrocarpal, jensenona, e o comportamento alimentar de marsupiais herbívoros, a presença de outros monoterpenos e sesquiterpenos, e de outros CFFs, como o sideroxilonal, na folhagem, sugeria que a seletividade alimentar poderia ser ainda influenciada por outros compostos (Moore *et al.*, 2004b). Para investigar esta questão, Moore *et al.*, (2005) realizaram um estudo que visou a análise do efeito de um único CFF, o sideroxilonal, o único encontrado em *E. melliodora*, na ingestão. Consideraram também as misturas complexas de CFF presentes noutras espécies de eucalipto, como em *E. globulus*, *E. viminalis*, *E. ovata* e *E. strzeleckii*. Os resultados deste estudo revelaram que o perfil químico, relativamente aos compostos CFF, da folhagem de todas as árvores estudadas, pertencentes às espécies *E. globulus* e *E. viminalis*, se caracterizou por um perfil dominado por macrocarpais, aparecendo outros CFF, como o sideroxilonal, em muito menor quantidade. Verificaram que concentração total de CFF, a concentração de CFF individuais e a concentração de

determinados grupos de CFF são altamente variáveis nas espécies *E. globulus*, *E. viminalis* e *E. ovata* (Moore *et al.*, 2004b, Moore, 2000).

Identificaram-se ainda setenta e seis tipos de terpenos nas quatro espécies analisadas. Relativamente aos terpenos, todos os perfis se mostraram dominados por monoterpenos, especialmente 1,8-cineole. Tentou-se averiguar de que modo o perfil químico de cada espécie poderia afetar a seletividade alimentar dos koalas. Curiosamente, verificou-se que as concentrações de CFF foram mais dissuasoras quando aos koalas foram fornecidas folhas de *E. globulus* do que quando foram fornecidas folhas de *E. viminalis*. Uma possível justificação é a de os koalas beneficiarem mais da ingestão de *E. viminalis* devido a esta ter um valor nutricional superior. Efetivamente, verifica-se que a espécie *E. viminalis* possui caracteristicamente maiores concentrações de azoto do que *E. globulus* (Moore *et al.*, 2004b).

Em árvores em que múltiplos grupos de CFF estiveram presentes, o seu efeito foi cumulativo. Concluiu-se que as misturas complexas de CFF encontradas em numerosas árvores fornecem um nível de defesa equivalente àquele atingido através de apenas um tipo de CFF, na mesma concentração (Moore *et al.*, 2004b).

#### **1.3.2.2.4.2. A relação entre terpenos e CFF**

As concentrações de terpenos e de CFF encontram-se positivamente correlacionadas em várias espécies (Moore *et al.*, 2004b), o que explica o fato de os primeiros estudos que abordaram o tema da seletividade alimentar terem identificado o terpeno 1,8-cineole como a principal molécula dissuasora da ingestão de folhagem por parte dos marsupiais (Andrew, Wallis, Harwood, Henson & Foley, 2007). Os animais associam a concentração do terpeno 1,8-cineole na dieta com os efeitos pós-ingestão provocados pela jensenona, um tipo de CFF, pelo que é provável que o modelo que determina a dieta dos koalas se fundamente num processo de aprendizagem baseado nas escolhas e consequências de ingestão de determinada folhagem (Lawler, Stapley, Foley, & Eschler, 1999). Contudo, a relação entre terpenos e CFF é específica de cada espécie de eucalipto. Por exemplo, na espécie *E. melliodora*, a concentração de sideroxilonal mostrou-se tipicamente mais do dobro do que a encontrada em árvores de *E. polyanthemus*, para a mesma concentração de 1,8-cineole e, do mesmo modo, as concentrações de CFF foram quase o dobro das observadas em *E. viminalis*, tendo as árvores das duas espécies perfis químicos de terpenos semelhantes (Moore *et al.*, 2004b). Se, então, espécies ricas em terpenos não são, necessariamente, ricas em CFF, as decisões alimentares dos folívoros devem ter em consideração tanto as concentrações de terpenos na folhagem como a espécie de árvore. A concentração de terpenos voláteis na superfície da folha pode variar de acordo com as condições atmosféricas, a intensidade da luz e o grau de maturação da folha, o que poderá afetar a

precisão com que os folívoros conseguem estimar a concentração dos compostos através do olfato. Pelo contrário, as diferenças qualitativas na composição foliar de terpenos serão continuamente diferentes, o que poderá permitir que os koalas identifiquem mais facilmente árvores cujo odor é diferente do que aquelas cujo odor é mais, ou menos, acentuado (Moore *et al.*, 2004b).

Se as concentrações de terpenos e CFF estão positivamente relacionadas, é possível que exista uma síntese co-variável destes compostos e que a regulação destes processos esteja intimamente ligada a nível genético (Moore *et al.*, 2004b). Muitos metabolitos secundários, incluindo a maioria dos terpenos, os compostos fenólicos e os CFFs encontram-se normalmente distribuídos nas populações naturais, o que sugere que as concentrações de metabolitos secundários sejam reguladas por vários genes. As variantes alélicas destes genes afetam potencialmente as concentrações dos compostos secundários (Külheim *et al.*, 2011).

#### **1.3.2.2.4.3. A distribuição dos CFF no eucalipto**

Os CFF foram identificados num elevado número de espécies de eucaliptos, apresentando as concentrações dos mesmos uma distribuição normal numa população. Este facto tem como consequência uma maior ou menor defesa das árvores à ingestão por parte de herbívoros: as árvores cuja folhagem se caracteriza por uma elevada concentração de CFF encontram-se mais protegidas do que aquelas cuja concentração é reduzida e, por isso, são mais facilmente sujeitas a predação (Moore & Foley, 2000). Esta variabilidade foi inicialmente detetada por Lawler *et al.* (1998a), que verificou a existência de uma grande variação de palatabilidade da folhagem de eucalipto, e que as diferentes espécies de herbívoros marsupiais evidenciam notáveis diferenças de suscetibilidade a árvores da mesma espécie de eucalipto. Atendendo a esta variação marcada, não se deve esperar o mesmo perfil químico de todas as árvores de uma mesma espécie. A intensidade da seleção natural dos CFF nos eucaliptos é ainda desconhecida, porém a sua evolução pode ter sido favorecida pela sua eficácia como defesa química contra herbívoros, tanto generalistas como especialistas (Andrew *et al.*, 2007). Além de existir variabilidade a nível da concentração de CFF em diferentes árvores, é importante salientar que as folhas de diferentes idades diferem, relativamente aos seus constituintes, de forma marcada e que o ambiente onde as árvores se desenvolvem influencia a concentração de metabolitos secundários nas folhas (Loney, Mcarthur, Sanson, Davies, Close, & Jordan, 2006).

Apesar de os CFF representarem um papel fundamental na seletividade alimentar dos koalas, outros fatores estarão, também, em jogo. Os compostos CFF não foram identificados em espécies do subgénero *Monocalyptus*, que inclui espécies ingeridas pelos

koalas, como *E. obliqua* e *E. pauciflora*, entre outras, o que sugere que neste subgénero existam outros fatores determinantes da seletividade (Moore & Foley, 2000).

## **SECÇÃO 1.4. SOBREVIVER COM UMA DIETA CONSTITUÍDA POR EUCALIPTO: ESTRATÉGIAS ANATÓMICAS, FISIOLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS EMPREGUES PELOS KOALAS**

---

As folhas e outros componentes edíveis dos eucaliptos devido ao facto de serem dotados de um reduzido nível de proteína, um alto teor de fibra e de vários componentes tóxicos são um alimento pouco apelativo, representando um nicho alimentar que foi ocupado pelos koalas. É interessante avaliar as estratégias anatómicas, fisiológicas e comportamentais que foram sendo desenvolvidas por esta espécie para ultrapassar as dificuldades em obter uma nutrição adequada com uma dieta constituída apenas por eucalipto.

### **1.4.1. Reduzido conteúdo energético: a manutenção de baixa taxa de metabolismo basal**

Uma das estratégias empregues pelos koalas para lidar com um alimento com um teor reduzido em energia, como é o eucalipto, é a manutenção de uma reduzida taxa de metabolismo basal. Os koalas adultos necessitam de, aproximadamente,  $0,33 \text{ MJ kg}^{-0,75}/\text{d}$  de energia digerível para manter o equilíbrio energético. Estas necessidades são consideravelmente inferiores às de outros herbívoros, incluindo cabras, cavalos e cangurus vermelhos, o que reflete a baixa taxa de metabolismo basal dos koalas, sendo 74% da média de outros marsupiais e apenas 52% da média de outros animais homeotérmicos (Cork *et al.*, 1983). O único mamífero cuja dieta se compõe maioritariamente por folhas e para o qual estão disponíveis dados comparáveis, são os indivíduos pertencentes ao género *Bradypus* (de nome comum preguiça), cujas necessidades energéticas são também extremamente reduzidas (Cork *et al.*, 1983).

### **1.4.2. Alto conteúdo em fibra e reduzido teor em proteína: ação vital da mastigação, importância do pH estomacal e retenção diferencial de partículas no intestino grosso**

Considerando a natureza fibrosa e abrasiva do eucalipto e o seu reduzido conteúdo energético, é expectável que os koalas tenham desenvolvido determinados mecanismos que

lhes permitam rentabilizar a energia contida no mesmo. Estão presentes ao longo do tubo digestivo alguns exemplos de estratégias a nível anatómico e digestivo que lhes permitem subsistir apenas com uma dieta nutricionalmente pobre como são as folhas do eucalipto, e, naturalmente, essas estratégias iniciam-se na boca. Considerando as suas particularidades digestivas, mais adiante clarificadas, é de vital importância que os koalas preparem, através da mastigação, o alimento, fragmentando-o em pequenas porções. Isto é conseguido através de várias estratégias: forma de inserção do alimento na boca (as folhas são mantidas numa posição diagonal de forma a que a base da folha contacte com as lâminas dos pré molares, estando a folha durante a mastigação numa posição oblíqua relativamente à boca) e morfologia dentária (a morfologia dos molares exhibe cúspides entrelaçadas, com lâminas longas e curvas, que resultam numa eficaz ação de corte, capaz de triturar material fibroso) (Lanyon & Sanson, 1986). A par destas estratégias, surgem outras três, sequenciais, que permitem manter a eficiência de oclusão e adiar os efeitos do desgaste dentário. A extensão de corte pode ser alterada através da exposição de partes do dente não utilizadas anteriormente, e através da introdução de novos dentes na oclusão dentária, que podem ser muito importantes quando o animal em crescimento aumenta a ingestão para suprir as suas necessidades energéticas (Lanyon & Sanson, 1986). Recentemente descobriu-se que os koalas empregam ainda outro mecanismo complementar (mericismo), que se traduz por uma sequência de movimentos de regurgitação, remastigação e re-deglutição. Quando uma refeição termina, os koalas movimentam-se para um local estável na árvore, onde permanecem um período considerável em posição de descanso, e, nesta posição, remastigam pequenas quantidades de alimento, garantindo que o material ingerido fica fragmentado em pequenas porções (Logan, 2001).

No momento em que a digesta atinge o estômago contacta com um meio de pH baixo, devido à presença, na pequena curvatura do órgão, de uma glândula gástrica, com cerca de 40 mm de diâmetro (Lee & Carrick, 1989). O pH ácido poderá agir como dissociador dos complexos taninos-proteínas, cuja ligação enfraquece se os complexos estiverem sujeitos a um pH ácido ou alcalino; contudo, esta ação apenas se verifica em alguns dos taninos hidrolisáveis e, portanto, nem todos os taninos desta classe, nem os taninos condensados, são sensíveis a este mecanismo (Osawa *et al.*, 1993). A hidrólise dos taninos permite a libertação da proteína anteriormente sequestrada nos complexos e ainda a disponibilização de fenóis e açúcares, resultantes da reação, libertando-se não apenas proteína num local onde os seus constituintes aminoácidos poderão ser absorvidos, mas também disponibilizando-se nutrientes para o animal na forma de hidratos de carbono (Cork *et al.*, 1983). Foram encontradas concentrações significativas de compostos fenólicos no conteúdo do ceco/cólon proximal, o que indica que nem toda a degradação dos taninos ocorre no sistema digestivo anterior; e calcularam uma elevada digestibilidade da fração de compostos

fenólicos totais (91%) e reduzida atividade dos taninos nas fezes (Cork *et al.*, 1993). Assim, é possível que alguns componentes da microflora cooperem na degradação dos complexos proteína-taninos não degradados no estômago e no metabolismo dos compostos fenólicos assim produzidos (Osawa *et al.*, 1993).

Uma outra estratégia é empregue pelos koalas para lidar com o elevado conteúdo fibroso do eucalipto, a maximização da ingestão e o conseqüente aumento da taxa de passagem da digesta, de forma a maximizar a quantidade de alimento processado (Cork, 1996). A esta estratégia alia-se uma outra, a divisão da digesta que atinge a junção do ceco com o cólon posterior em duas frações. Uma das frações comporta as partículas de maior dimensão, que transitam para o cólon posterior e são excretadas rapidamente, ao invés da outra fração, que abrange as partículas de pequenas dimensões e os solutos, que são retidos no ceco e no cólon anterior (Cork & Warner, 1983). Os mesmos autores obtiveram um tempo de retenção médio no intestino de 213 horas para marcadores de fase de soluto e de 99 horas para marcadores de partículas. A retenção seletiva de pequenas partículas, que incluem micro-organismos, descamação epitelial e fragmentos pouco lenhificados de paredes celulares permite a redução das perdas de azoto fecal, a retenção da parte mais digerível da fibra, e uma possível maior concentração de bactérias no ceco, enquanto a excreção de fragmentos de fibra altamente lenhificada minimiza a retenção de fibra não digerível, que poderia limitar a capacidade de ingestão (Cork, 1996; Hume, 1989).

As partículas de pequenas dimensões ficam então retidas no ceco dos koalas, que possui grandes dimensões, e que é, em termos relativos, o maior de entre os mamíferos (Harropa & Degabriel, 1976). Devido ao grande desenvolvimento do intestino posterior, os koalas, a par de outros herbívoros, como o cavalo e o coelho, incluem-se no grupo dos herbívoros cuja fermentação bacteriana ocorre no intestino grosso, ou seja, a fibra alimentar sofre fermentação principalmente no ceco e no cólon. Estas espécies utilizam a fibra como meio de obtenção de energia num grau inferior àquele que ocorre nos animais cuja fermentação ocorre no intestino anterior, como é o caso dos ruminantes, obtendo a sua energia através da absorção de conteúdos celulares no intestino delgado, caso estes tenham sido previamente libertados, processo este que pode ser complementado com obtenção de energia através da fermentação microbiana das partículas fibrosas no intestino posterior (Hume, 1989). Apesar do grande desenvolvimento do ceco e do cólon dos koalas, que sugeriria a ocorrência de uma intensa atividade fermentativa nesses locais, estimou-se que a produção total diária de ácidos gordos voláteis (AGV) nos koalas contribua apenas para 9% da energia digerível, tendo-se ainda estimado que a contribuição da digestão da parede celular nos AGV produzidos *in vitro* foi de apenas 60 a 70%, o que sugere que ocorreu fermentação de outro tipo de substrato (Cork & Hume, 1983). Concluiu-se que os hidratos

de carbono não estruturais e os lípidos são a principal fonte de energia metabolizável nos koalas (Cork *et al.*, 1983).

Para estes mecanismos de obtenção de energia serem eficazes, o animal deve produzir uma grande quantidade de pequenas partículas, libertando os conteúdos celulares e/ou aumentando a área de superfície para uma efetiva digestão fermentativa, o que enfatiza a importância da partição de folhas em pequenas partículas pelos dentes (Hume, 1989).

#### **1.4.3. Regulação da ingestão e da metabolização dos compostos secundários do eucalipto**

Uma vez que a ingestão de metabolitos secundários tem como consequência a toxicidade e a perda de determinados nutrientes, os animais tiveram de desenvolver mecanismos que lhes permitam regular a ingestão dos compostos referidos, para não exceder determinado limiar (DeGabriel, 2010). Isto implica, em primeiro lugar, que os animais devem detetar e regular a ingestão de toxinas, através de mecanismos de *feedback*; em segundo lugar, que os animais devem possuir capacidade de destoxificação proporcionais à variedade e volume de toxinas encontradas; e terceiro, que os animais devem possuir mecanismos que reduzam a absorção de metabolitos secundários ingeridos do trato gastrointestinal, diminuindo a necessidade de destoxificação (Foley & Moore, 2005).

Estudos em marsupiais folívoros evidenciaram três possíveis mecanismos de *feedback*. O primeiro é a náusea e émise como parte de uma aversão condicionada à ingesta; o segundo é uma aversão não condicionada por componentes amargos ou picantes; e o terceiro é o limite da taxa de destoxificação dos metabolitos secundários (DeGabriel *et al.*, 2010).

#### **1.4.4. O sabor amargo da ingesta, o surgimento de náusea e a taxa de destoxificação como agentes limitantes da ingestão**

O sabor da ingesta pode agir como um possível fator limitante da ingestão (Marsh *et al.*, 2007). Muitos herbívoros possuem um limiar de sabor inibitório para taninos que é consideravelmente superior ao limiar para os alcalóides. Os desenvolvimentos na fisiologia sensorial podem fornecer meios para estudar em que medida o sabor do alimento, separadamente das consequências pós-ingestão, pode desempenhar um papel na seletividade alimentar de plantas ricas em toxinas (Foley & Moore, 2005).

O perfil de ingestão de metabolitos secundários pode ser ilustrado por uma assíntota, que não é excedida mesmo quando a concentração dos referidos metabolitos na dieta aumenta,

o que sugere a capacidade de os animais detetarem uma toxicose iminente, e traduzi-la em alterações de comportamento. Esta sensação de toxicose iminente pode estar relacionada com a libertação de serotonina, consequência da destruição de células estomacais e do intestino delgado, provocada por alguns metabolitos secundários, que estimula o centro emético cerebral, e que consequentemente provoca o surgimento de náusea. Esta é mediada por uma rede complexa de neurotransmissores que atuam no cérebro, e pode atuar como um estímulo poderoso para a aprendizagem. Os animais conseguem associar esta experiência com os sabores e odores de alimento para desenvolver aversões de sabor condicionadas (Foley & Moore, 2005). Entre os folívoros que se alimentam de eucalipto, existe uma forte evidência de que pelo menos alguns metabolitos secundários propiciam o aparecimento de náusea, levando a reduções da ingestão, e que estes efeitos podem ser associados com sinais voláteis das plantas. Quando foram administrados a indivíduos das espécies marsupiais *Pseudocheirus peregrinus* e *Trichosurus vulpecula* anti eméticos como o ondansetron e o vofopitant, a ingestão de um tipo de CFF, jensenona, que inibe fortemente a ingestão das folhas e que está presente em várias espécies de eucaliptos, aumentou. A ingestão de jensenona provoca a libertação de serotonina de células enterocromafins do estômago e do intestino delgado, que se liga aos recetores de serotonina do nervo vago (Lawler *et al.*, 1998b). O composto ondansetron bloqueia a ligação de serotonina e portanto a náusea é reduzida, e os animais comem mais (Degabriel *et al.*, 2010).

A toxicidade que caracteriza alguns metabolitos implica que os mesmos devem ser removidos do organismo para evitar doença prolongada, pelo que a taxa de destoxificação dos referidos compostos pode também ser um fator limitante da ingestão (Foley & Moore, 2005). A destoxificação é um processo metabólico que implica o envolvimento de energia e de proteínas, para a indução e manutenção de enzimas e conjugados específicos para excreção (Degabriel *et al.*, 2010), pelo que a destoxificação por si mesma aumenta as necessidades nutricionais dos animais, especialmente de energia e de proteína (Cork, 1996). Uma vez que estes compostos, depois de metabolizados, são potentes ácidos orgânicos, ou surge a necessidade da atuação de compostos tampão, como bicarbonato ou fosfato, ou se dá remoção de iões de hidrogénio, através da excreção de uma quantidade superior de amónia e uma menor quantidade de ureia do que a observada em herbívoros não sujeitos à ingestão de uma quantidade tão grande de metabolitos secundários, o que, portanto, significa que os animais terão necessidades acrescidas de fósforo e de azoto devido ao risco de acidose (Cork, 1996).

As espécies de marsupiais herbívoros diferem na capacidade de ingestão de alimento contendo metabolitos secundários. Os koalas suportam um nível de ingestão deste tipo de compostos, como são exemplo os CFF, superior àquele que é suportado por indivíduos da



espécie *Pseudocheirus peregrinus*, o que poderá indicar que as duas espécies terão capacidades distintas de tolerância, biotransformação e excreção dos referidos compostos (Lawler *et al.*, 1998b). Esta diferença deve-se, provavelmente, ao facto de diferentes herbívoros possuírem diferentes vias para metabolizar os metabolitos secundários das plantas (O'Reilly Wapstra, McArthur & Potts, 2002). Estudos recentes em marsupiais e em ratos pertencentes ao género *Neotoma* mostraram que as limitações para a destoxificação podem, efetivamente, atuar como sinais para a ingestão cessar. Por exemplo, a caracterização da farmacocinética de 1,8-cineole em indivíduos da espécie *Pseudocheirus peregrinus* permitiu verificar que os indivíduos desta espécie mantiveram a ingestão de folhagem até ao momento em que o 1,8-cineole consumido saturou o metabolismo pré-sistémico, o que provocou um rápido aumento na concentração da referida molécula no sangue e o interromper da ingestão (Degabriel *et al.*, 2010).

Os terpenos são sujeitos a uma destoxificação, processo no qual atuam enzimas mono-oxigenases dependentes do citocromo P450, e a extensão da conjugação subsequente é, aparentemente, variável, de acordo com a espécie de herbívoro. Os koalas e os indivíduos da espécie *Petauroides volans* e *Pseudocheirus peregrinus* dependem mais da oxidação extensiva para produzir metabolitos hidrossolúveis para excreção, ao invés dos herbívoros generalistas, que dependem principalmente de reações de conjugação, como é o caso da glucuronoconjugação (Moore *et al.*, 2004a). Além de reduzir os gastos energéticos da excreção de terpenos, a estratégia de poli-oxigenação também liberta as vias de conjugação, como a glucuronoconjugação, para a metabolização dos compostos fenólicos (Foley & Moore, 2005).

#### **1.4.5. Alterações comportamentais como somatório dos mecanismos de *feedback***

Foi observado que, em cativeiro, os mamíferos reagem a variadas concentrações de metabolitos secundários através da alteração do tamanho das refeições (Degabriel *et al.*, 2010). Relativamente aos mecanismos de *feedback* acima expostos, é provável que não exista um mecanismo separado para cada componente ou classe de componentes. Os animais devem ser capazes de confiar nos processos gerais de *feedback* e alterar o comportamento alimentar de acordo com os mesmos. Estes processos, para serem eficazes, devem fornecer informação rapidamente, e serem coordenados com alterações de comportamento durante uma refeição. Isto sugere que o sinal seria provavelmente transmitido pelo sistema nervoso, apesar de sinais transmitidos através de moléculas, transportadas via sanguínea, também serem possíveis (Degabriel *et al.*, 2010).

A alteração de comportamento provocada pelo surgimento de náusea tem como consequência uma redução da carga nos sistemas de destoxificação, contudo é importante notar que os animais enfrentam, ainda assim, um limite máximo de destoxificação diário (Foley & Moore, 2005). A náusea, que pode surgir após a ingestão de metabolitos secundários, ao estar associada a algum indicador relacionado com o sabor ou o odor, permite o reconhecimento daquelas mesmas consequências no futuro, aquando a ingestão de folhagem (Degabriel *et al.*, 2010).



# Capítulo 2

## Objetivos

---

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a seletividade alimentar dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa. Este trabalho teve, desde o início, o propósito de responder a algumas questões práticas, de forma a contribuir para a otimização da qualidade da alimentação dos animais e fornecer alguns dados para rentabilizar a gestão dos arboretos que fornecem o alimento dos koalas.

As questões às quais este trabalho teve por objetivo responder foram as seguintes:

- a. Existem preferências individuais por parte dos koalas estudados relativamente às diferentes variedades de folhas de eucalipto?
- b. A existirem preferências, serão elas variáveis ao longo do ano?
- c. Os koalas demonstram o mesmo nível de preferência para as espécies de eucalipto provenientes do Instituto Superior de Agronomia e da Mata do Escaroupim, os dois locais do qual provém o alimento dos animais?
- d. A folhagem fornecida mostra valores químico-nutricionais semelhantes à folhagem de eucalipto utilizada por outros jardins zoológicos para a alimentação de koalas?
- e. Existe variação da qualidade nutricional da folhagem ao longo do ano?
- f. Existem espécies de eucalipto mais apreciadas pelos koalas nas quais se deva investir caso se pretenda estender a plantação de eucalipto?
- e. Os comportamentos alimentares demonstrados pelos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa estão de acordo com os níveis de preferência achados para determinadas espécies de eucalipto em outros locais?

Para se responder a estas questões, procedeu-se à análise estatística dos dados registados pelos tratadores dos koalas durante o período compreendido entre os anos de 2008 e 2012, relativos ao consumo diário de cada espécie de eucalipto; à realização de “testes de cafeteria” (“*cafeteria trials*”, em inglês), ou seja, o estudo dos comportamentos alimentares dos koalas quando confrontados com determinados grupos de espécies de eucalipto; e à análise laboratorial da composição nutricional (determinação dos parâmetros matéria seca, cinza, NDF, ADF, ADL e proteína bruta) de amostras mensais do eucalipto fornecido aos koalas durante o período de Setembro de 2012 a Janeiro de 2013.

# Capítulo 3

## **Metodologia**

---

---

## SECÇÃO 3.1. METODOLOGIA - ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

---

### 3.1.1. Análise preliminar dos dados

O registo diário, pelos tratadores dos koalas, do nível de consumo de cada espécie de eucalipto, durante o período compreendido entre 2008 e 2012, permitiu a acumulação de uma grande quantidade de registos relativos às preferências alimentares. Os dados referem-se ao níveis de preferências (0,1,2,3 ou 4) dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa, ou seja, machos Kiwa, Bamba e Moonan, e das fêmeas Bunyarra, Koomeela e Orana, para cada espécie de eucalipto fornecida diariamente, durante o período referido.

A análise estatística desta informação foi precedida por uma análise preliminar da informação inserida sobre as preferências alimentares dos koalas, no período compreendido entre os anos de 2008 e 2012, com vista a averiguar a possível existência de dados que não se enquadrassem no âmbito deste estudo. Cada registo representa a classificação do consumo de determinada espécie de eucalipto fornecida aos koalas. Considerando o propósito da análise, ou seja, a avaliação da seletividade alimentar dos koalas, consideraram-se apenas os dias em que foram registados entre 3 a 5 níveis de consumo.

Num mesmo dia, nem sempre os molhos disponibilizados foram de espécies de eucalipto distintas, pelo que, quando para a mesma espécie se registaram duas classificações do consumo, fez-se a média dos valores e arredondou-se por excesso (por exemplo, *E.globulus*: 1 e 3 = 1,5 → 2).

Os três koalas do sexo feminino foram considerados em grupo, devido ao facto se encontrarem reunidos na mesma instalação. Assim, o grupo “Fêmeas” refere-se às informações sobre os níveis de preferências das três fêmeas (Bunyarra, Komeela e Orana), e inclui também dados referentes ao período em que a fêmea Bunyarra se encontrou sozinha numa instalação.

Para a análise estatística dos dados, utilizou-se o *software* informático *IBM SPSS Statistics 21*, para *Windows*.

### 3.1.2. Relação entre a classificação do consumo atribuída pelos tratadores e o consumo real

Com vista à averiguação do rigor da classificação do nível de consumo de cada molho pelos koalas, registado diariamente pelos tratadores dos mesmos, foram recolhidos alguns dados

relacionados com o consumo real de folhagem por parte dos koalas e a classificação atribuída pelos tratadores a esse mesmo consumo. Durante o ensaio de observação do comportamento alimentar dos koalas, calculou-se a diferença de peso de cada molho após permanecer 24 horas na instalação de cada indivíduo/ grupo de koalas, que corresponderá, aproximadamente, à quantidade total de folhagem consumida, e relacionou-se esse valor com a classificação atribuída, de forma independente, pelos tratadores, apenas com base na observação do molho e na avaliação do nível de desbaste que o mesmo sofreu. A relação encontra-se ilustrada no Gráfico 1.

### 3.1.3. Análise do nível de preferência de cada espécie de eucalipto

Para a análise deste parâmetro optou-se por comparar o nível de preferência (0, 1, 2, 3 ou 4) para as espécies de eucalipto provenientes de um mesmo local. Uma vez que o volume de dados é superior para as espécies provenientes da Mata do Escaroupim, optou-se por integrar na análise apenas as espécies provenientes deste local, e assumiu-se um valor mínimo de registos por espécie de 250 ( $n \geq 250$ ).

As espécies que se incluem neste grupo são *Eucalyptus botryoides*, *E. camaldulensis*, *E. cinerea*, *E. globulus*, *E. grandis*, *E. leucoxylon*, *E. macarthuri*, *E. maculata*, *E. nitens*, *E. occidentalis*, *E. ovata*, *E. polyanthemus*, *E. punctata*, *E. resinifera*, *E. robusta*, *E. rudis*, *E. saligna*, *E. tereticornis* e *E. viminalis*.

Através da aplicação do mesmo critério, foram excluídas as espécies *E. citriodora*, *E. crebra*, *E. dalrympleana*, *E. delegatensis*, *E. goniocalyx*, *E. gunni*, *E. obliqua*, *E. pauciflora*, *E. perriana*, *E. propinqua*, *E. regnans*, *E. rubida* e *E. sideroxylon*.

Efetou-se uma análise de variância, calculando-se o valor de *F* de Fisher, com um nível de significância de 95%.

### 3.1.4. Análise do nível de preferência das espécies provenientes da Mata do Escaroupim e do Instituto Superior de Agronomia

Em segundo lugar, compararam-se os níveis de preferência das espécies provenientes da Mata do Escaroupim e do Instituto Superior de Agronomia (ISA) para averiguar se a origem do alimento teve influência no grau de consumo do mesmo. Uma vez que o volume de dados, referentes aos níveis de preferência dos eucaliptos provenientes do ISA, é menor do que o existente para os eucaliptos da Mata do Escaroupim, assumiu-se um valor mínimo de trinta ( $n \geq 30$ ), de dados referentes a ambos os locais, para uma espécie de eucalipto ser incluída na amostra. Com base neste critério, selecionaram-se as espécies *E. botryoides*, *E. camaldulensis*, *E. cinerea*, *E. citriodora*, *E. crebra*, *E. globulus*, *E. grandis*, *E. gunni*, *E.*



*maculata*, *E. nitens*, *E. occidentalis*, *E. perriniana*, *E. polyanthemus*, *E. propinqua*, *E. resinifera*, *E. rudis* e *E. saligna* e excluíram-se as espécies *E. dalrympleana*, *E. delegatensis*, *E. goniocalyx*, *E. leucoxylon*, *E. macarthuri*, *E. melliodora*, *E. microcorys*, *E. obliqua*, *E. ovata*, *E. pauciflora*, *E. punctata*, *E. regnans*, *E. rubida*, *E. sideroxylon* e *E. tereticornis*.

### **3.1.5. Variação dos níveis de preferência ao longo do ano**

Em terceiro lugar, avaliou-se a variação média, ao longo do ano, do nível de preferência dos koalas. Considerou-se mais apropriado analisar, nesta variação, as espécies mais frequentemente fornecidas aos koalas, idealmente provenientes do mesmo local. Assim, consideraram-se as espécies cujos registos foram superiores a mil ( $n \geq 1000$ ), provenientes da Mata do Escaroupim: *E. botryoides*, *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. punctata*, *E. robusta*, *E. saligna* e *E. viminalis*.

Mais informações sobre o tamanho da amostra de cada espécie, podem ser obtidas por consulta dos anexos a esta dissertação.

## **SECÇÃO 3.2. METODOLOGIA – TESTES DE CAFETARIA**

---

Os testes de cafeteria são utilizados quando se pretende analisar a seletividade alimentar de determinado indivíduo ou grupo de indivíduos. Para tal, disponibilizam-se várias alternativas alimentares e verifica-se quais delas são selecionadas em primeiro lugar. Estas preferências são sempre relativas, pois a preferência por determinado alimento é influenciada pelo grupo de alimentos disponíveis.

Para analisar a seletividade alimentar dos koalas realizaram-se testes de cafeteria. Procedeu-se à colocação nas instalações dos koalas de grupos de espécies de eucalipto e à avaliação das que registaram um consumo superior. Paralelamente, observaram-se alguns aspetos do comportamento alimentar da espécie.

### **3.2.1. Local de estudo e indivíduos**

O Jardim Zoológico de Lisboa foi o local onde se realizaram os testes de cafeteria e a observação do comportamento alimentar. O estudo incidiu sobre os cinco indivíduos da espécie *Phascolarctos cinereus* pertencentes à coleção do Jardim Zoológico de Lisboa: dois machos (Moonan e Pintupi) e três fêmeas (Bunyarra, Koomeela e Orana).

### **3.2.2. Período em que decorreu o estudo**

A observação do comportamento alimentar decorreu em duas fases: a primeira teve lugar em Março de 2013 e a segunda em Junho de 2013, que teve por objetivo servir como controlo e averiguar a existência de diferenças nas preferências das espécies de acordo com a altura do ano. As observações decorreram durante cinco dias, em cada fase, nos dias 12, 13, 14, 15 e 18 de Março de 2013, e nos dias 18, 19, 20, 21 e 24 de Junho.

### **3.2.3. Colheita e armazenamento do alimento**

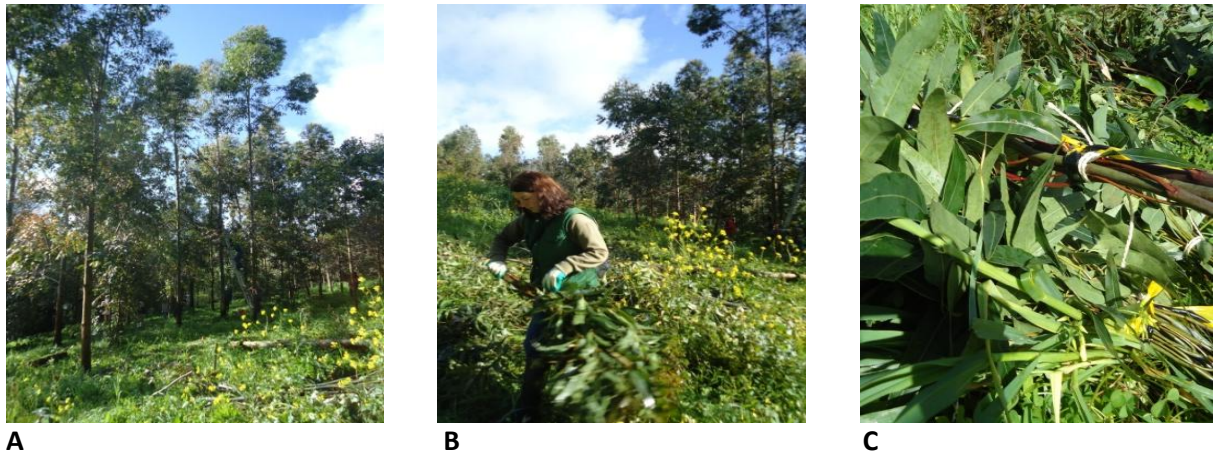
Os ramos de eucalipto fornecidos aos koalas foram provenientes do Instituto Superior de Agronomia (ISA) que, em conjunto com a Mata Nacional do Escaroupim, fornece alimento para os koalas do Jardim Zoológico de Lisboa. Optou-se pela colheita de eucalipto proveniente apenas do ISA devido ao facto de, nesse local, as espécies de eucalipto se encontrarem perfeitamente identificadas, e com menor possibilidade de haver trocas, o que foi vital para o correto delineamento experimental deste projeto.

Uma vez que os koalas ingerem preferencialmente as porções jovens dos ramos, o critério de seleção do grupo de espécies de eucalipto a serem incluídas no estudo de observação do comportamento alimentar foi a disponibilidade de rebentos nas árvores. A abundância de folhas jovens no eucalipto varia com a época do ano e as condições atmosféricas vigentes nos dias anteriores. As espécies de eucalipto selecionadas foram aquelas cujas árvores se mostraram capazes de fornecer rebentos suficientes para a alimentação dos koalas (Tabela 1). A colheita foi efetuada por pessoal especializado do Jardim Zoológico de Lisboa que, com o equipamento apropriado, acedeu aos rebentos que se encontram no topo das árvores. Os rebentos foram de seguida reunidos em molhos, identificados e transportados para o Jardim Zoológico (Figura 1). Aí, os molhos foram mantidos numa câmara de refrigeração e colocados em recetáculos com água até serem colocados nas instalações onde se encontravam os koalas.

### **3.2.4. Método da observação**

Adaptou-se e aplicou-se o método descrito por Higgins *et al.*, (2011). No Jardim Zoológico de Lisboa, cada macho habita uma instalação, ao invés das fêmeas, que se encontram reunidas na mesma instalação. As instalações dos machos possuem quatro locais para colocação de molhos de eucaliptos, sendo que a instalação das fêmeas possui seis destes locais, que estão colocados entre troncos de eucaliptos sem folhas, onde os koalas circulam livremente, e que tentam mimetizar o seu *habitat* natural. Estes animais são alimentados através da colocação diária de molhos de eucaliptos, de pelo menos quatro espécies

diferentes. Foram colocados nas várias instalações grupos de diferentes espécies de eucalipto (Tabela 1).



**Figura 3.** **A.** Vista geral de uma porção do arboreto de eucaliptos do Instituto Superior de Agronomia, de onde proveio o eucalipto utilizado no estudo da observação do comportamento alimentar dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa. **B.** Recolha de rebentos de eucalipto, identificação e colocação de atilhos nos molhos, que foram depois transportados para o Jardim Zoológico. **C.** Molhos de eucalipto atados e identificados.

**Tabela 1.** Grupos de espécies de eucalipto fornecidas aos koalas.

Grupo I	Grupo II	Grupo III
<i>E. propinqua</i>	<i>E. sideroxylon</i>	<i>E. cinerea</i>
<i>E. resinifera</i>	<i>E. viminalis</i>	<i>E. cypellocarpa</i>
<i>E. grandis</i>	<i>E. botryoides</i>	<i>E. maculata</i>
<i>E. saligna</i>	<i>E. globulus</i>	<i>E. rudis</i>

O eucalipto foi recolhido no dia 0, no dia 2, e no dia 4 em que decorreram as observações, de forma a fornecer aos koalas folhas de eucalipto recém cortadas (com menos de um dia). Foram colocadas quatro espécies de eucalipto em cada instalação dos machos por dia. Uma vez que a instalação onde se encontram as fêmeas possui seis locais para colocação dos molhos de eucalipto, foram repetidas duas das espécies em cada dia. O Grupo I de espécies de eucalipto, composto por *Eucalyptus propinqua*, *Eucalyptus resinifera*, *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*, foi fornecido nos dias 1 e 2 de cada fase de observações (12 e 13 de Março, 18 e 19 de Junho), o Grupo II fornecido nos dias 3 e 4 (14 e 15 de Março, 20 e 21 de Junho) e o Grupo III fornecido no dia 5 (18 de Março e 24 de Junho) aos machos. Nas Tabelas 2 e 3 encontram-se as espécies e as posições das

espécies fornecidas aos machos em cada dia, e na Tabela 4 encontra-se a mesma informação, mas relativa às fêmeas. As fêmeas não foram incluídas nos testes de cafeteria no mês de Junho porque o grupo que integrou os testes de cafeteria na primeira fase, em Março, não se encontrava completo, pois uma das fêmeas estava separada das restantes, por questões de doença. Uma vez que o objetivo da segunda fase foi servir de controlo, optou-se por, na segunda fase, observar apenas os machos.

Para evitar a habituação dos koalas a determinada posição, os molhos de mesma espécie de eucalipto foram colocados em locais diferentes na instalação. Mais concretamente, a distribuição dos molhos foi efetuada seguindo a estrutura de meio quadrado latino.

A observação do comportamento alimentar decorreu durante a primeira hora em que os koalas tiveram alimento à disposição. Se, por um lado, uma hora de observação comportamental aparenta ser pouco tempo, é necessário ter em conta que os koalas estão ativos apenas quatro horas por dia e que, portanto, a observação durante uma hora abrange 25% do tempo de atividade. Além disso, é no momento em que se fornece novo alimento que os indivíduos estão mais despertos e que, por isso, a observação do seu comportamento poderá proporcionar mais dados (Higgins *et al.*, 2011). Idealmente, as observações deveriam decorrer simultaneamente, contudo, uma vez que apenas uma pessoa estava disponível para a observação e recolha dos dados, as observações do comportamento foram feitas em tempos sucessivos. A ordem de observação de cada instalação foi mudada a cada dia.

Para avaliar a quantidade total de folhagem ingerida de cada molho de eucalipto, os molhos de eucalipto foram pesados antes de serem colocados nas instalações, e vinte e quatro horas depois, logo após serem retirados da instalação.

O comportamento exibido pelos koalas foi classificado em três categorias: “ingere folhagem”, “permanece no mesmo local” e “circula entre ramos”. Quando a classificação do comportamento se integrou na categoria “ingere folhagem”, indicou-se a espécie cuja folhagem foi ingerida. Indicou-se ainda o tempo durante o qual exibiram cada tipo de comportamento.

**Tabela 2.** Espécies de eucalipto e respetivas posições na instalação do macho Pintupi durante o período em que decorreram as observações do comportamento alimentar (Março e Junho de 2013).

Grupo de espécies	Datas	Posição 1	Posição 2	Posição 3	Posição 4
I	12/ 03 18/06	<i>E.propinqua</i>	<i>E.resinifera</i>	<i>E.grandis</i>	<i>E.saligna</i>
	13/03 19/06	<i>E.grandis</i>	<i>E.saligna</i>	<i>E.propinqua</i>	<i>E.resinifera</i>
II	14 /03 20/06	<i>E.sideroxylon</i>	<i>E.viminalis</i>	<i>E.botryoides</i>	<i>E.globulus</i>
	15/03 21/06	<i>E.globulus</i>	<i>E.sideroxylon</i>	<i>E.viminalis</i>	<i>E.botryoides</i>
III	18/03 24/06	<i>E.cinerea</i>	<i>E.rudis</i>	<i>E.cypellocarpa</i>	<i>E.maculata</i>

**Tabela 3.** Espécies de eucalipto e respetivas posições na instalação do macho Moonan durante o período em que decorreram as observações do comportamento alimentar (Março e Junho de 2013).

Grupo de espécies	Data	Posição 1	Posição 2	Posição 3	Posição 4
I	12/ 03 18/06	<i>E.propinqua</i>	<i>E.resinifera</i>	<i>E.grandis</i>	<i>E.saligna</i>
	13/03 19/06	<i>E.grandis</i>	<i>E.saligna</i>	<i>E.propinqua</i>	<i>E.resinifera</i>
II	14 /03 20/06	<i>E.sideroxylon</i>	<i>E.viminalis</i>	<i>E.botryoides</i>	<i>E.globulus</i>
	15 /03	<i>E.sideroxylon</i>	<i>E.viminalis</i>	<i>E.botryoides</i>	<i>E.globulus</i>
III	18 /03 24/06	<i>E.cinerea</i>	<i>E.rudis</i>	<i>E.cypellocarpa</i>	<i>E.maculata</i>

**Tabela 4.** Espécies de eucalipto e respectivas posições na instalação do grupo “Fêmeas” durante o período em que decorreram as observações do comportamento alimentar (Março de 2013).

Grupo de espécies	Data	Posição 3	Posição 2	Posição 3	Posição 4	Posição 5	Posição 6
I	12/03	<i>E. propinqua</i>	<i>E. resinifera</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. saligna</i>	<i>E. propinqua</i>	<i>E. resinifera</i>
	13/03	<i>E. grandis</i>	<i>E. saligna</i>	<i>E. propinqua</i>	<i>E. resinifera</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. saligna</i>
II	14/03	<i>E. sideroxylon</i>	<i>E. viminalis</i>	<i>E. botryoides</i>	<i>E. globulus</i>	<i>E. sideroxylon</i>	<i>E. viminalis</i>
	15/03	<i>E. viminalis</i>	<i>E. botryoides</i>	<i>E. sideroxylon</i>	<i>E. viminalis</i>	<i>E. globulus</i>	<i>E. botryoides</i>
III	18/03	<i>E. rudis</i>	<i>E. cinerea</i>	<i>E. maculata</i>	<i>E. cypellocarpa</i>	<i>E. rudis</i>	<i>E. maculata</i>

### SECÇÃO 3.3. METODOLOGIA - ANÁLISE NUTRICIONAL DA FOLHAGEM DE EUCALIPTO

#### 3.3.1. Local de análise laboratorial

A análise dos parâmetros nutricionais decorreu, maioritariamente, no Instituto Superior de Agronomia, no Laboratório Pais de Azevedo, e no Laboratório de Nutrição da Faculdade de Medicina Veterinária.

#### 3.3.2. Período em que decorreu a análise

As análises laboratoriais decorreram entre o período compreendido entre os meses de Fevereiro e Julho de 2013.

### **3.3.3. Recolha e armazenamento da amostra**

Com vista à determinação da variação dos componentes nutricionais do alimento fornecido aos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa, foram recolhidas amostras de folhagem de eucalipto, no período de Setembro de 2012 a Janeiro de 2013, pelos tratadores dos koalas. O eucalipto foi proveniente do Instituto Superior de Agronomia (31 amostras) e da Mata Nacional do Escaroupim (23 amostras). Mensalmente, antes da colocação do alimento nas instalações dos koalas, foram colhidos de cada espécie de eucalipto cinquenta gramas de folhagem (rebentos e folhagem madura), colocados em sacos de plástico e congelados para posterior análise laboratorial. Em Março, durante o período de observação do comportamento alimentar dos koalas, foi também realizada a colheita de amostras, de cada espécie utilizada no estudo.

Este trabalho apenas foi possível com a colaboração dedicada dos tratadores dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa, aos quais, uma vez mais, se agradece.

### **3.4. Metodologias aplicadas nos procedimentos laboratoriais**

#### **3.4.1. Preparação da amostra e 1ª fase da determinação da matéria seca (a 63°C)**

##### **a. Instrumentos e equipamentos utilizados**

Estufa, a temperatura constante de 63°C

Moinho de crivo de 1 mm (Retsch® SK 100)

Balança

##### **b. Procedimento**

Pesagem (W1) e secagem das folhas em estufa a 63°C durante 48 horas. Pesagem das folhas de eucalipto após a secagem (W2) e posterior moagem. Amostras colocadas em recipientes fechados de plástico e mantidas num lugar seco.

##### **c. Cálculo**

Matéria seca (63°C) (%) =  $(W2/W1) \times 100$

#### **3.4.2. 2ª fase da determinação da matéria seca (a 103°C)**

Objetivo: Determinação do valor do resíduo obtido após a total evaporação da água.

##### **a. Instrumentos e equipamento**

Balança (Mettler® AE 200)

Cápsulas

Estufa, a temperatura constante de 103°

Exsicador

b. Procedimento:

Pesagem de 2g de amostra (W2) (precisão  $\pm 0,0001g$ ) e colocação em estufa até peso constante a 103°. Arrefecimento em exsicador e posterior pesagem (W3).

c. Cálculo:

Matéria seca (103°C) (%) =  $(W3/W2) \times 100$

O valor de matéria seca foi calculado através da multiplicação dos valores de MS (63°C) e MS (103°C).

### **3.4.3. Determinação da cinza**

Objetivo: Determinação do valor do resíduo mineral obtido através da incineração da amostra.

a. Instrumentos e equipamento

Balança (Mettler® AE 200)

Mufla (Heraeus® M110)

Exsicador

b. Procedimento

Colocação da mesma cápsula e amostra utilizadas para cálculo da DM na mufla a 550°, durante no mínimo 3 horas, e posterior arrefecimento em exsicador e pesagem (W4).

c. Cálculo

Cinza (% MS 103°C) =  $(W4/W3) \times 100$

### **3.4.4. Determinação sequencial da fibra detergente**

Objetivo: Determinação do valor de três resíduos de fibra, através da hidrólise sucessiva da mesma amostra, utilizando-se respectivamente: uma solução detergente neutra (solubilização dos constituinte intracelulares e pectinas, resíduo = NDF), uma solução detergente ácida (solubilização das hemiceluloses, resíduo = ADF) e por último de uma hidrólise ácida



(solubilização da celulose, resíduo = ADL), de acordo com os métodos descritos por Soest (1963), Soest e Wine (1967), e Soest, Robertson e Lewis (1991).

#### **3.4.4.1. Determinação Fibra Detergente Neutra (NDF)**

##### **a. Instrumentos e equipamento**

Cadinhos de vidro

Sistema de filtração semiautomática (Raypa<sup>®</sup> F-6)

##### **b. Procedimento**

Pesagem de 1g de amostra para um cadinho seco (W0). Transferência dos cadinhos para a unidade de extração a quente. Adição de 100 mL de solução detergente neutra e de 45 µL de amilase termorresistente Sigma- Aldrich<sup>®</sup> e aquecimento até à ebulição. Fervura lenta durante 60 minutos, de modo a que as partículas se mantenham em suspensão. Filtração da solução e lavagem com água fervente destilada. Transferência dos cadinhos para uma unidade de extração a frio e lavagem da amostra com água destilada, 3 a 4 vezes. Lavagem da amostra duas vezes com acetona. Colocação dos cadinhos numa estufa a 103º durante, no mínimo, 6 horas. Transferência dos cadinhos para um exsicador e pesagem depois de arrefecidos (W1).

#### **3.4.4.2. Determinação da Fibra Detergente Ácida (ADF)**

##### **a. Instrumentos e equipamento:**

Cadinhos de vidro, sistema de filtração semiautomática (Raypa<sup>®</sup> F-6)

##### **b. Procedimento:**

Dispersão do resíduo de ADF através da adição de água destilada. Transferência dos cadinhos para a unidade de extração a quente e adição de 100mL de solução detergente ácida e aquecimento até à ebulição. Fervura durante 60 minutos. Filtração da solução e lavagem, 3 a 4 vezes, com água fervente destilada. Lavagem dos cadinhos com acetona, duas vezes. Colocação dos cadinhos numa estufa a 103º durante, no mínimo, 6 horas. Transferência dos cadinhos para um exsicador e pesagem (W2) dos mesmos depois de arrefecidos

#### **3.4.4.3. Determinação de Lenhina Detergente Ácida (ADL)**

##### **a. Instrumentos e equipamento:**

Cadinhos de vidro

**b. Procedimento:**

Colocação dos cadinhos num tabuleiro e enchimento dos cadinhos com solução de ácido sulfúrico a 72% até  $\frac{3}{4}$  da sua capacidade. Colocação de uma vareta de vidro nos cadinhos. Agitar a cada hora e voltar a colocar a solução nos cadinhos se necessário. Três horas depois da adição inicial da solução ADL, filtrar e lavar com água quente destilada no mínimo 6 vezes. Colocação dos cadinhos na estufa a 103° no mínimo 12 horas. Transferência dos cadinhos para um exsiccador e pesagem dos mesmos depois de frios (W3). Transferência dos cadinhos para uma mufla a 550° durante 3 horas no mínimo. Arrefecimento num exsiccador e pesagem depois de arrefecidos (W4).

**d. Cálculo**

$$\text{NDF (\%)} = ((W1-W4)/W0) \times 100$$

$$\text{ADF (\%)} = ((W2-W4)/W0) \times 100$$

$$\text{ADL (\%)} = ((W3-W4)/W0) \times 100$$

**3.4.4.4. Determinação do teor de proteína bruta**

Objetivo: Determinação do valor do azoto total incluído nas proteínas, péptidos e compostos não peptídicos, de acordo com o método de Kjeldahl (A.O.A.C., 1995). Fornecimento de uma estimativa do conteúdo proteico de uma amostra, utilizando o coeficiente geral de 6,25 para transformar azoto total em proteína bruta.

**a. Instrumentos e Equipamento**

Balança (Mettler® AE 200)

Tubos de ensaio

Sistema de digestão (Digester Tecator® 1015)

Unidade de destilação (Tecator® 1026)

**b. Procedimento:**

Digestão: Pesagem de 1g (W0) de amostra (precisão  $\pm 0,0001\text{g}$ ) e transferência da mesma para um tubo de digestão. Fazer a determinação em duplicado. Adicionar o catalisador. Incluir 2 tubos controlo (T<sub>0</sub>). Submeter os tubos a digestão de 400°C durante 60 a 75 minutos, até a amostra se tornar límpida.

Destilação: Depois de arrefecidos, colocar os tubos na unidade de destilação. Adicionar 50 mL de água destilada. A unidade de destilação adiciona automaticamente 50 mL de solução

alcalina (NaOH a 40%). Utilizar no mínimo 50 ml de solução alcalina. A solução é destilada e o destilado é recolhido num Erlenmeyer com 25 ml da solução recetora (ácido bórico) à qual se adicionam 2 gotas de indicador.

Titulação: Utilizar um volume mínimo de destilado de 75 ml. Titular a amostra destilada ( $T_1$ ) usando HCL 0,1- 0,2N e corrigir com a média dos tubos controlo. Tolerância de 0,8, no máximo, entre duplicados.

d. Cálculo

$$\text{Proteína bruta (\%)} = [(T_1 - T_0) \times 1.4 \times M] / W_0 \times 6,25$$

Para a determinação deste parâmetro, efetuaram-se análises no Instituto Superior de Agronomia e na Faculdade de Medicina Veterinária. Para as amostras das quais se obtiveram determinações da proteína bruta de ambos os locais, calculou-se a média dos dois valores.

# Capítulo 4

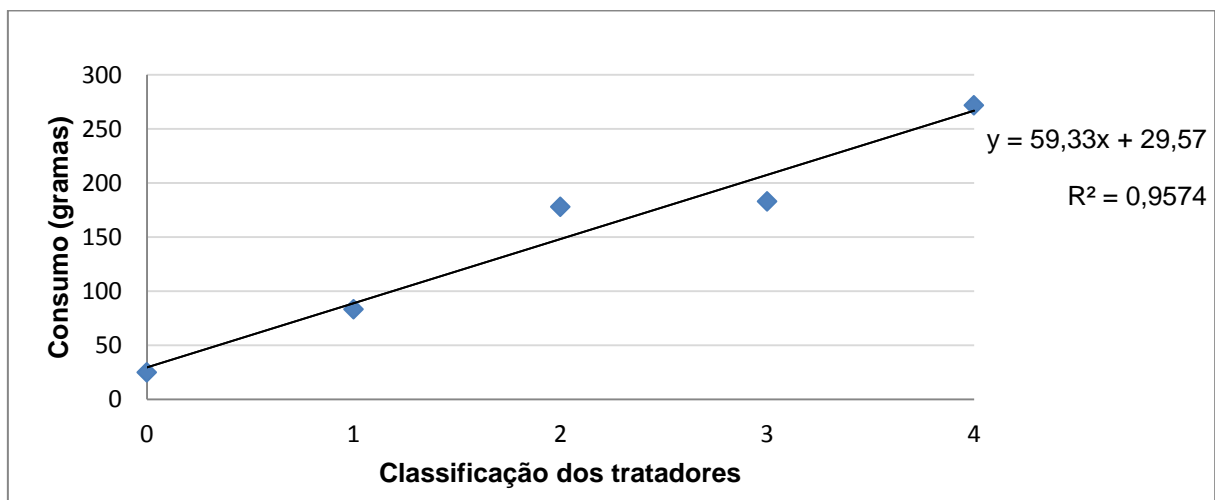
## Resultados

---

## SECÇÃO 4.1. RESULTADOS - SELETIVIDADE ALIMENTAR NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE 2008 E 2012

### 4.1.1. Relação entre o consumo de folhagem de eucalipto e a classificação do nível de ingestão pelos tratadores

Com vista à averiguação do rigor da classificação do nível de consumo de cada molho pelos koalas, registado diariamente pelos tratadores dos mesmos, foram recolhidos alguns dados relacionados com o consumo real de folhagem e a classificação atribuída pelos tratadores a esse mesmo consumo. Durante o ensaio de observação do comportamento alimentar dos koalas, calculou-se a diferença de peso de cada molho após permanecer 24 horas na instalação de cada indivíduo / grupo de koalas, e relacionou-se esse valor com a classificação atribuída, de forma independente, pelos tratadores, apenas com base na observação do molho e na avaliação do nível desbaste que o mesmo sofreu. A relação encontra-se ilustrada no Gráfico 1, e verifica-se que a correlação entre a classificação do nível de consumo registada pelos tratadores, dada de forma qualitativa e subjetiva, está proximamente relacionada com o real consumo de folhagem ( $R^2 = 0,9574$ ). Esta informação valida os dados anteriormente inseridos pelos tratadores, relativos às preferências alimentares dos koalas, durante o período de 2008-2012, analisados neste trabalho.



**Gráfico 1.** Valores médios de consumo de folhagem (gramas) correspondentes à classificação do nível de desbaste de cada molho de eucalipto, registados pelos tratadores. Existe uma correlação moderadamente elevada ( $R^2=0,9574$ ) entre o consumo real de folhagem (g) e a classificação, qualitativa, do nível de consumo de folhagem atribuída pelos tratadores.

#### 4.1.2. Níveis médios de preferências dos indivíduos e dos grupos apresentados para as espécies de eucalipto

Os Gráficos 2 e 3 ilustram os níveis médios de preferências dos machos, alimentados individualmente, Moonan, Bamba e Kiwa; das fêmeas, que, por estarem agrupadas na mesma instalação e serem alimentadas em simultâneo, são consideradas em grupo; e ainda do grupo “Fêmeas + Kiwa”, cujos dados se referem aos períodos em que o macho referido permaneceu na instalação onde se encontraram as koalas do sexo feminino.

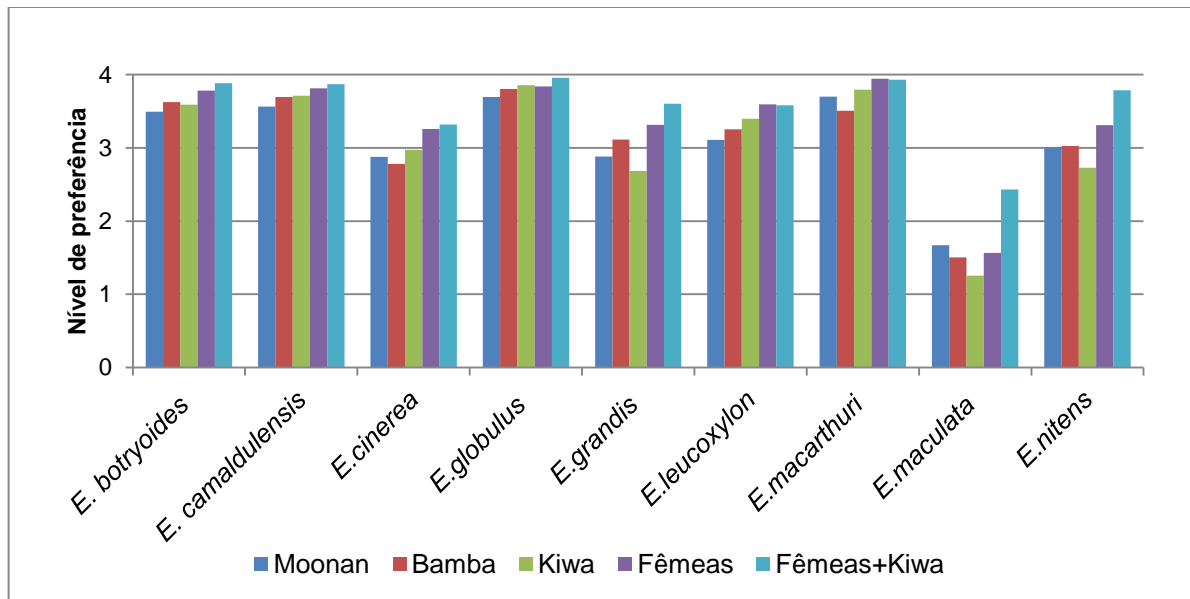
Analizou-se a importância da influência da presença de determinada espécie nos níveis de consumo das restantes (dados não apresentados), e verificou-se que a presença ou ausência de determinada espécie de eucalipto não influenciou significativamente o nível de preferência das restantes. Deste modo, optou-se por apresentar os níveis de preferência de cada indivíduo / grupo para cada espécie de eucalipto.

Para avaliar a existência de preferências individuais, procedeu-se, como explicado na metodologia, a uma análise de variância, calculando-se o valor de  $F$  de Fisher, com um nível de significância de 95%. Existem diferenças significativas entre os grupos se  $P \leq 0,05$ . Verificou-se que, para todas as espécies representadas nos Gráficos 2 e 3, à exceção de *E. maculata* e *E. rudis*, existem diferenças significativas entre o nível de preferência entre indivíduos / grupos para cada espécie de eucalipto. Na Tabela 5, podem consultar-se os valores de  $F$  e de  $P$  encontrados.

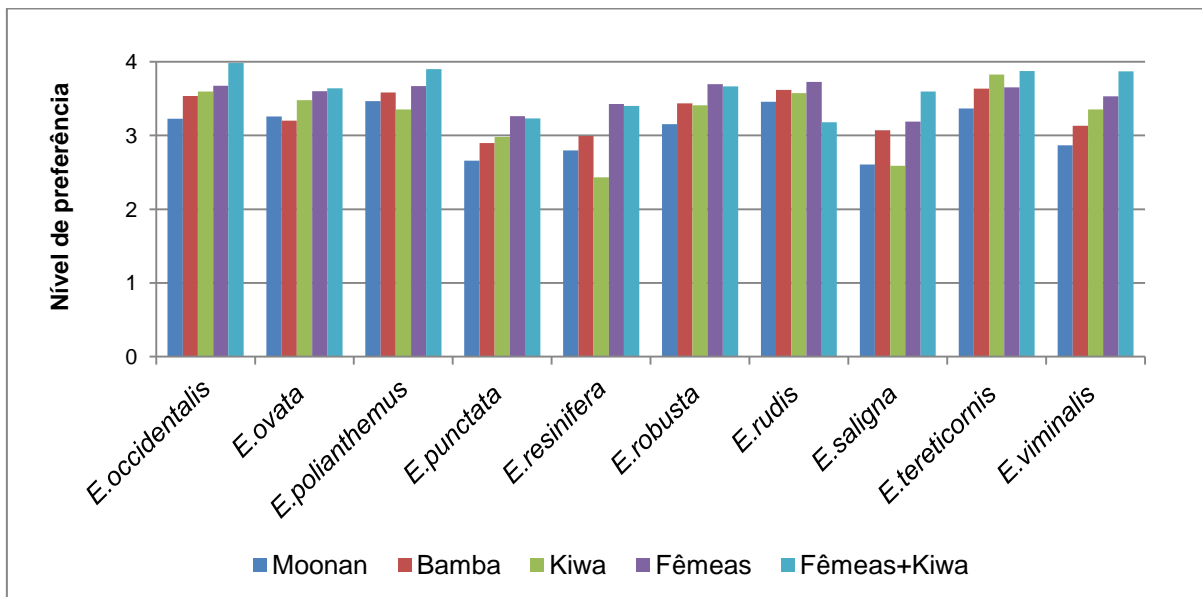
As espécies de eucalipto analisadas apresentam, de um modo geral, níveis elevados de preferência, estando classificadas entre 3 e 4, numa escala de 0 a 4. As espécies *E. botryoides*, *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. leucoxylon*, *E. macarthuri*, *E. occidentalis*, *E. ovata*, *E. polyanthemus*, *E. robusta* e *E. tereticornis* destacam-se por possuírem, para todos os indivíduos e grupos analisados, níveis médios de preferências superiores a 3. A espécie *E. globulus* registou o nível médio de preferência mais elevado (3,83), opondo-se a *E. maculata* que registou o menor nível médio de preferência (1,68).

Observando as médias dos níveis de preferência dos grupos “Fêmeas” e “Fêmeas + Kiwa”, verifica-se que as mesmas são consistentemente mais elevadas (à exceção de *E. rudis*) do que as médias do nível de preferência dos indivíduos.

Definiu-se que um dos objetivos deste trabalho foi averiguar a existência de variação nas preferências ao longo dos meses e ao longo dos vários anos. Para tal, analisou-se a influência do fator mês-ano na variação dos níveis de preferência para cada espécie de eucalipto. Foram encontradas diferenças significativas a este nível, para todas as espécies de eucalipto. Na Tabela 6 podem ser consultados os respetivos valores de  $F$  e  $P$ .



**Gráfico 2.** Comparação dos níveis médios de preferências alimentares dos vários indivíduos / grupos (indivíduos Bamba, Kiwa e Moonan, e grupos Fêmeas e Fêmeas + Kiwa) para diversas espécies de eucalipto. Dados relativos ao período compreendido entre 2008-2012. Espécies de eucalipto provenientes do arboreto do Escaroupim ( $n \geq 250$ ).



**Gráfico 3.** Comparação do nível de preferências alimentares dos vários indivíduos/grupos (indivíduos Bamba, Kiwa e Moonan, e grupos Fêmeas e Fêmeas + Kiwa) para diversas espécies de eucalipto. Dados relativos ao período compreendido entre 2008-2012. Espécies de eucalipto provenientes do arboreto do Escaroupim,  $n \geq 250$ ) (Continuação).

**Tabela 5.** Valores de  $F$  e  $P$  encontrados na análise de variância, com um nível de significância de 95%, da comparação entre o nível de preferências entre indivíduos / grupos para cada espécie de eucalipto.

<b>Espécie de eucalipto</b>	<b><math>F</math></b>	<b><math>P</math></b>
<i>E. botryoides</i>	9,279	0,000
<i>E. camaldulensis</i>	14,67	0,000
<i>E. cinerea</i>	5,762	0,000
<i>E. globulus</i>	3,196	0,013
<i>E. grandis</i>	9,670	0,000
<i>E. leucoxylon</i>	3,550	0,000
<i>E. macarthuri</i>	10,878	0,000
<i>E. maculata</i>	1,228	0,300
<i>E. nitens</i>	4,118	0,003
<i>E. occidentalis</i>	8,040	0,000
<i>E.ovata</i>	3,426	0,009
<i>E.polyanthemus</i>	4,753	0,001
<i>E.resinifera</i>	5,629	0,000
<i>E. robusta</i>	23,807	0,000
<i>E.rudis</i>	1,454	0,215
<i>E. saligna</i>	10,540	0,000
<i>E. tereticornis</i>	2,749	0,028
<i>E. viminalis</i>	19,958	0,000



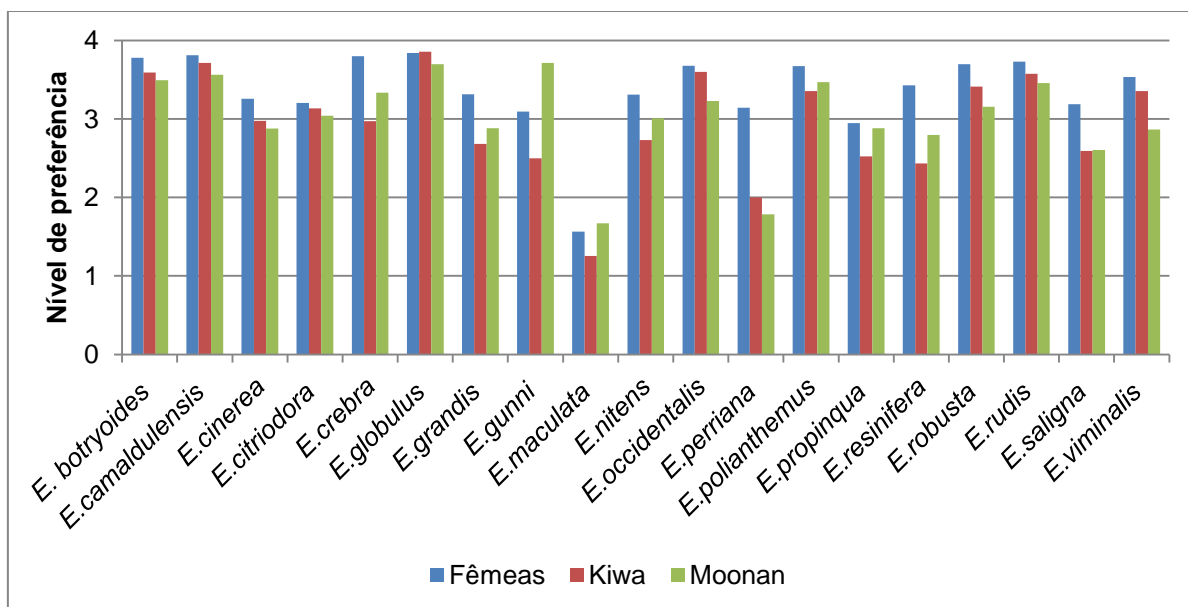
**Tabela 6.** Valores de  $F$  e  $P$  encontrados na análise de variância, com um nível de significância de 95%, dos níveis de preferências entre mês e ano, para cada espécie de eucalipto.

<b>Espécie de eucalipto</b>	<b>Valor de <math>F</math></b>	<b><math>P</math></b>
<i>E. botryoides</i>	2,890	0,000
<i>E. camaldulensis</i>	3,848	0,000
<i>E. cinerea</i>	3,700	0,000
<i>E. citriodora</i>	2,544	0,000
<i>E. globulus</i>	3,310	0,000
<i>E. grandis</i>	2,959	0,000
<i>E. leucoxylon</i>	2,288	0,000
<i>E. macarthurii</i>	10,878	0,000
<i>E. maculata</i>	3,812	0,000
<i>E. nitens</i>	2,604	0,000
<i>E. occidentalis</i>	4,339	0,000
<i>E. ovata</i>	2,086	0,000
<i>E. polyanthemus</i>	3,550	0,000
<i>E. propinqua</i>	2,703	0,001
<i>E. punctata</i>	2,596	0,000
<i>E. robusta</i>	2,549	0,000
<i>E. rudis</i>	1,722	0,002
<i>E. saligna</i>	3,831	0,000
<i>E. tereticornis</i>	4,796	0,000
<i>E. viminalis</i>	2,768	0,000

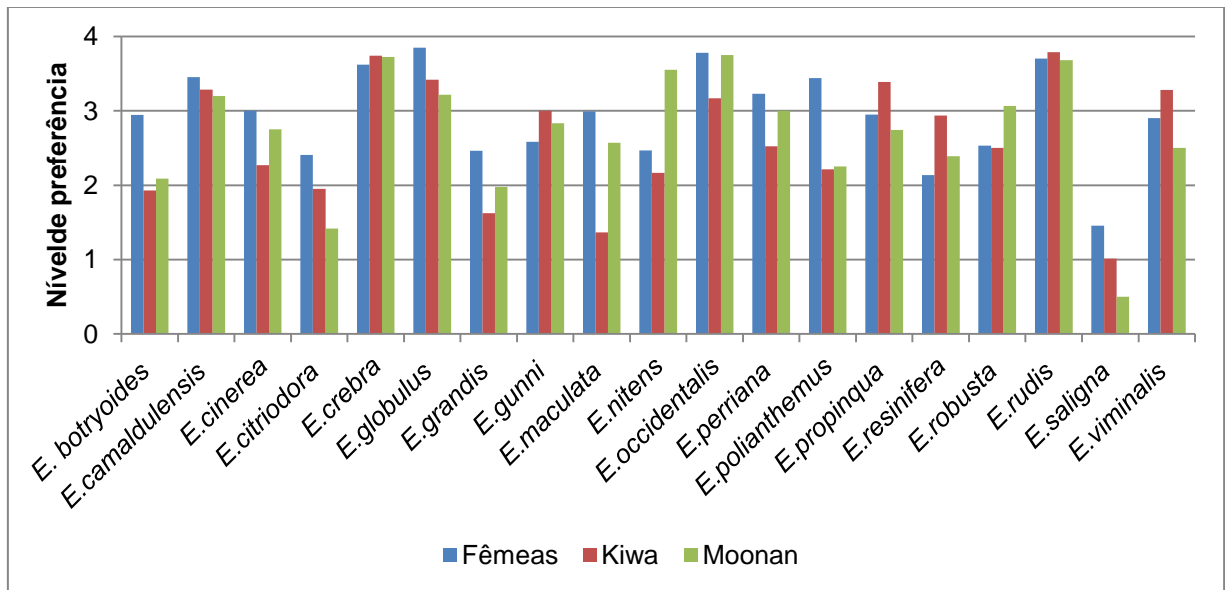
#### 4.1.3. Níveis de preferências médios relativos às várias espécies de eucalipto provenientes da Mata do Escaroupim e do Instituto Superior de Agronomia

Os gráficos 4 e 5 permitem a comparação dos níveis médios de preferências do grupo das três fêmeas (grupo “fêmeas”) e dos indivíduos Kiwa e Moonan, entre os dois locais de proveniência do alimento, Instituto Superior de Agronomia e Mata do Escaroupim. O grupo fêmeas, apesar de englobar três indivíduos, foi encarado, no âmbito da análise, como representante de um indivíduo.

Verificou-se que os níveis médios de preferências são superiores para o alimento proveniente do Escaroupim, para todas as espécies de eucalipto à exceção de quatro: *E. maculata*, *E. occidentalis*, *E. perriana* e *E. rudis*, nas quais o nível médio de preferência aumenta quando os molhos de eucalipto são originários do ISA. Não foi realizada a análise de variância entre os níveis de preferência de um e de outro local por duas razões. Em primeiro lugar, essa análise não se integra nos objetivos deste trabalho, por aqui se pretender uma análise global e abrangente do alimento fornecido aos koalas. Em segundo lugar, o volume de dados sobre os níveis de preferência relativos a espécies de eucalipto provenientes do ISA é consideravelmente menor, o que, do ponto de vista estatístico, não permitiria uma comparação rigorosa entre os dois locais.



**Gráfico 4.** Níveis de preferências apresentados pelos koalas para as várias espécies de eucalipto, provenientes da Mata do Escaroupim.

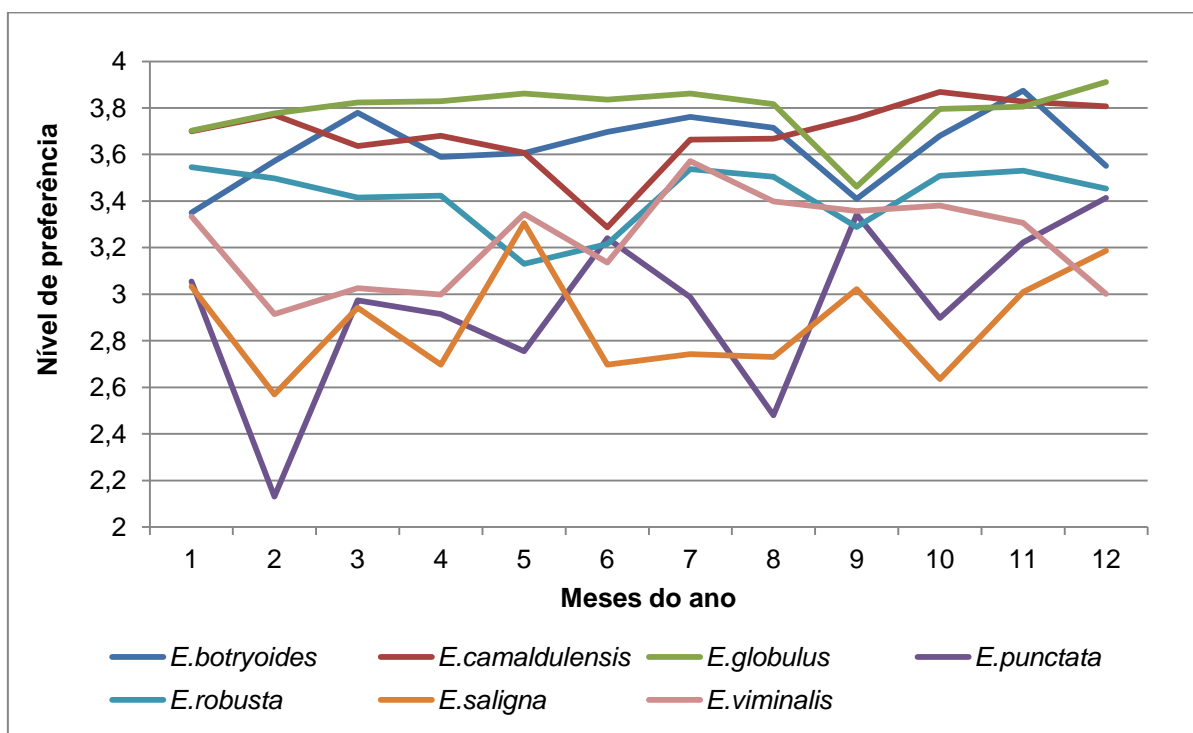


**Gráfico 5.** Níveis de preferências apresentados pelos koalas para as várias espécies de eucalipto, provenientes do Instituto Superior de Agronomia.

#### 4.1.4. Variação dos níveis médios de preferências ao longo do ano de sete espécies de eucalipto

No Gráfico 6 ilustram-se as variações do nível de preferências alimentares, em média, dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa ao longo do ano. Os dados são relativos ao período compreendido entre 2008 e 2012. Incluíram-se na representação as espécies de eucalipto que constaram mais frequentemente na alimentação dos koalas no período referido, ou seja, *Eucalyptus botryoides*, *E. punctata*, *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. saligna* e *E. viminalis* ( $n \geq 1000$ ).

Existiu variação das preferências de uma mesma espécie de eucalipto ao longo do ano. As espécies *E. globulus*, *E. botryoides* e *E. camaldulensis* foram as espécies cuja preferência se manteve, em média, em níveis mais elevados ao longo do ano, com valores de, respetivamente, 3,79, 3,63 e 3,67. As espécies *E. saligna* e *E. punctata* registaram os valores médios mais reduzidos (2,88 e 2,95, respetivamente) e os maiores valores de desvio padrão, sendo a diferença entre os valores mínimos e máximos de 0,736 para *E. saligna* e 1,283 para *E. punctata*.



**Gráfico 6.** Variação média das preferências alimentares ao longo do ano, durante os anos de 2008 a 2012, relativamente às espécies *E. botryoides*, *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. punctata*, *E. robusta*, *E. saligna* e *E. viminalis* ( $n \geq 1000$ ).

Uma análise mais cuidada do gráfico permite apontar tendências comuns a algumas das espécies. Tomando como exemplo as espécies *E. saligna*, *E. viminalis* e *E. punctata*, verifica-se que estas demonstraram, em média, um comportamento semelhante no primeiro trimestre, com uma diminuição do nível preferência no mês de Fevereiro e um aumento em Março. No segundo trimestre, *E. viminalis* e *E. saligna* registaram uma diminuição do nível preferência em Abril, um aumento em Maio, e uma diminuição em Junho, cessando, a partir desse mês, a semelhança entre o comportamento destas espécies. A espécie *E. camaldulensis* registou igualmente uma diminuição do nível de preferências em Junho, mantendo-se em níveis elevados durante os restantes meses do ano. Já as espécies *E. globulus*, *E. robusta* e *E. botryoides* sofreram um decréscimo do nível de preferência em Setembro. A espécie *E. robusta* registou também uma diminuição do nível de preferências em Maio, a par de *E. punctata*, sofrendo esta última ainda outro decréscimo em Outubro, acompanhada por *E. saligna*.

## SECÇÃO 4.2. RESULTADOS – TESTES DE CAFETARIA

---

A análise do comportamento alimentar visou atingir dois objetivos principais. O primeiro foi a averiguação das preferências alimentares iniciais dos indivíduos, ou seja, a determinação das espécies cuja ingestão ocorreu em primeiro lugar. Para tal, colocaram-se, nas instalações dos koalas, como anteriormente referido, grupos de espécies de eucalipto, e procedeu-se à observação dos vários indivíduos durante a primeira hora em que o alimento esteve à disposição. Registaram-se as aproximações aos molhos, a reação aos mesmos (cheirar e ingerir folhagem, cheirar e não ingerir folhagem, ingerir folhagem sem cheirar demoradamente), e os minutos que cada indivíduo despendeu no consumo de cada molho.

O segundo objetivo foi a determinação da quantidade total de folhagem ingerida, tendo-se para o efeito pesado os molhos antes e depois da colocação dos mesmos nas instalações dos koalas. Este consumo relaciona-se com a quantidade total ingerida ao longo de 24 horas e representa as preferências “finais” dos indivíduos. As diferenças de peso apresentadas pelos molhos de eucalipto representaram o consumo de folhagem.

Assim, as preferências iniciais encontram-se ilustradas em minutos (tempo de cada refeição), e as preferências finais ilustradas em gramas (consumo). O ensaio decorreu durante cinco dias em Março e cinco dias em Junho, tendo-se na primeira fase observado todos os indivíduos, e na segunda fase observado apenas os machos, devido a razões logísticas esclarecidas no Capítulo 3.

De seguida, explicitam-se os consumos totais de cada espécie por cada indivíduo/grupo (Tabela 7), ilustram-se graficamente as preferências médias iniciais (Gráfico 7) e o consumo médio de cada espécie de eucalipto (Gráfico 8). Com estes gráficos pretende-se um estudo geral das preferências, sem considerar as preferências individuais. Por último, surgem ilustradas as preferências iniciais, assim como o consumo total de folhagem, de cada koala do sexo masculino (Gráficos 9 e 10). A par destes dados, foram recolhidos outras informações acerca das preferências individuais, as quais se encontram nos Anexos (parte II).

Na Tabela 7 estão patentes os valores médios dos consumos de folhagem de cada espécie de eucalipto por cada indivíduo ou grupo. Estão igualmente presentes os respetivos valores de desvios-padrão e o número de molhos de cada espécie de eucalipto que constaram no estudo. Os machos 1 e 2 são considerados individualmente, e as Fêmeas 1, 2 e 3 são consideradas em grupo por estarem reunidas na mesma instalação.

Verifica-se que, no grupo I de espécies de eucalipto, a folhagem de *E.grandis* sofreu um maior consumo pelos machos, e a folhagem de *E.propinqua* foi aquela que sofreu um maior consumo pelas fêmeas. No grupo II, a espécie cuja folhagem foi mais consumida foi *E.globulus*, tanto para ambos os machos como para as fêmeas. Relativamente ao grupo III,

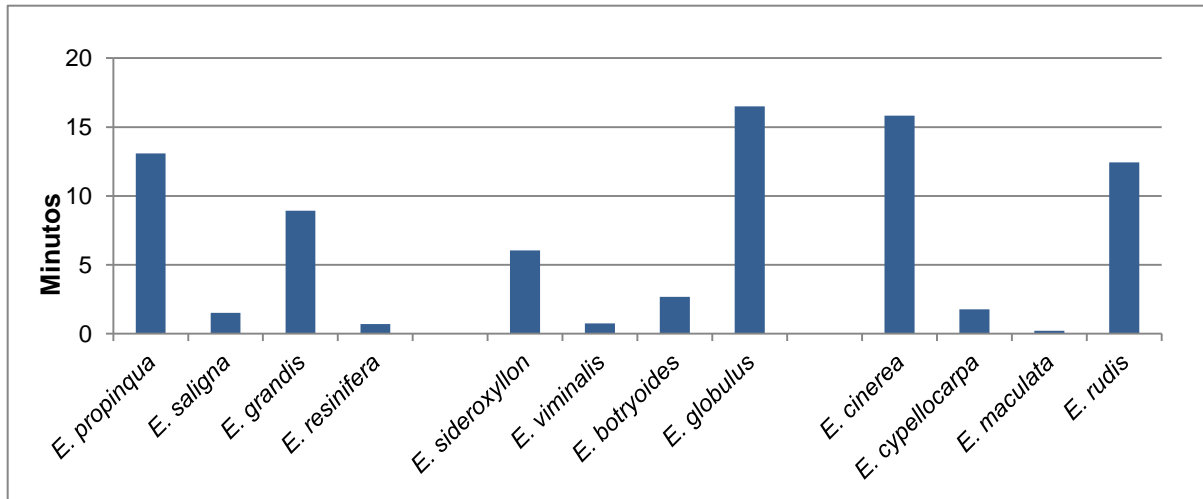
a folhagem de *E.rudis* sofreu uma maior ingestão por ambos os machos. Quanto às fêmeas, verifica-se que a espécie *E.cinerea* registou o maior consumo, contudo é necessário ter em atenção que apenas um molho desta espécie foi fornecido, pelo que fica por determinar se, caso um número mais elevado de molhos desta espécie tivessem sido fornecidos, se esta espécie se manteria em primeiro lugar como a “mais consumida”, ou se seria ultrapassada por *E.rudis*, que surge em segundo lugar.

**Tabela 7.** Média  $\pm$  desvio padrão do consumo total (g) de cada espécie de eucalipto pelos koalas, pelos indivíduos Pintupi (Macho 1), Moonan (Macho 2) e pelas fêmeas Bunyarra, Koomeela e Orana (Fêmeas 1, 2 e 3), durante os testes de cafetaria.

Grupo	Espécies	Macho 1	nº molhos	Macho 2	nº molhos	Fêmeas 1, 2 e 3	nº molhos
I	<i>E. propinqua</i>	182,5 $\pm$ 74,2	4	135 $\pm$ 28,3	4	393,3 $\pm$ 297,4	3
	<i>E. resinifera</i>	155 $\pm$ 35,6	4	135 $\pm$ 35,4	4	106,6 $\pm$ 106	3
	<i>E. grandis</i>	217,5 $\pm$ 88,4	4	147,5 $\pm$ 123,7	4	283,3 $\pm$ 98,7	3
	<i>E. saligna</i>	105 $\pm$ 70,7	4	37,5 $\pm$ 3,54	4	123,3 $\pm$ 77,7	3
II	<i>E.sideroxylon</i>	217,5 $\pm$ 17,7	4	137,5 $\pm$ 95,5	3	233,3 $\pm$ 66,6	3
	<i>E.viminalis</i>	177,5 $\pm$ 81,3	4	35 $\pm$ 35,6	3	180 $\pm$ 45,5	4
	<i>E.botryoides</i>	142,5 $\pm$ 95,5	4	52,5 $\pm$ 74,5	3	263,3 $\pm$ 63,5	3
	<i>E.globulus</i>	302,5 $\pm$ 17,7	4	285 $\pm$ 49,5	3	525 $\pm$ 120,2	2
III	<i>E.cinerea</i>	240 $\pm$ 56,6	2	165 $\pm$ 4	2	260	1
	<i>E.cypellocarpa</i>	70 $\pm$ 14,1	2	180 $\pm$ 4	2	100	1
	<i>E.maculata</i>	85 $\pm$ 91,9	2	265 $\pm$ 77,8	2	145 $\pm$ 120,2	2
	<i>E.rudis</i>	430 $\pm$ 141,4	2	320 $\pm$ 367,7	2	230 $\pm$ 70,7	2

#### 4.2.1. Tempo despendido, em média, no consumo de cada espécie de eucalipto

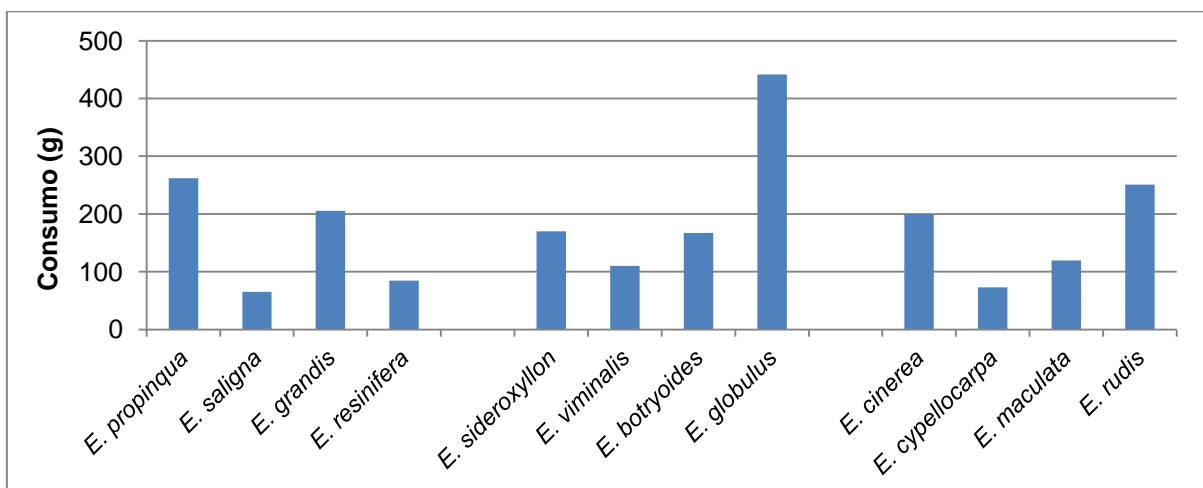
O Gráfico 7 evidencia, em média, os minutos despendidos pelos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa na ingestão de cada espécie de eucalipto, durante a primeira hora em que as mesmas estiveram disponíveis. As espécies cujo consumo se prolongou por mais tempo, foram, em média, *E.propinqua*, *E.globulus*, *E.cinerea*, e *E.rudis*.



**Gráfico 7.** Minutos despendidos, em média, pelos koalas (machos e fêmeas) na ingestão de folhagem de cada espécie de eucalipto, durante os primeiros sessenta minutos em que novo alimento esteve à disposição.

#### 4.2.2. Consumo médio, em gramas, de cada espécie de eucalipto

O Gráfico 8 evidencia, em média, o consumo de folhagem (em gramas) de folhagem de cada espécie de eucalipto, durante 24 horas. As espécies mais ingeridas, em média, foram *E. propinqua*, *E. grandis*, *E. globulus*, *E. cinerea* e *E. rudis*. A espécie *E. globulus* destacou-se por registar um consumo bastante superior às restantes espécies.



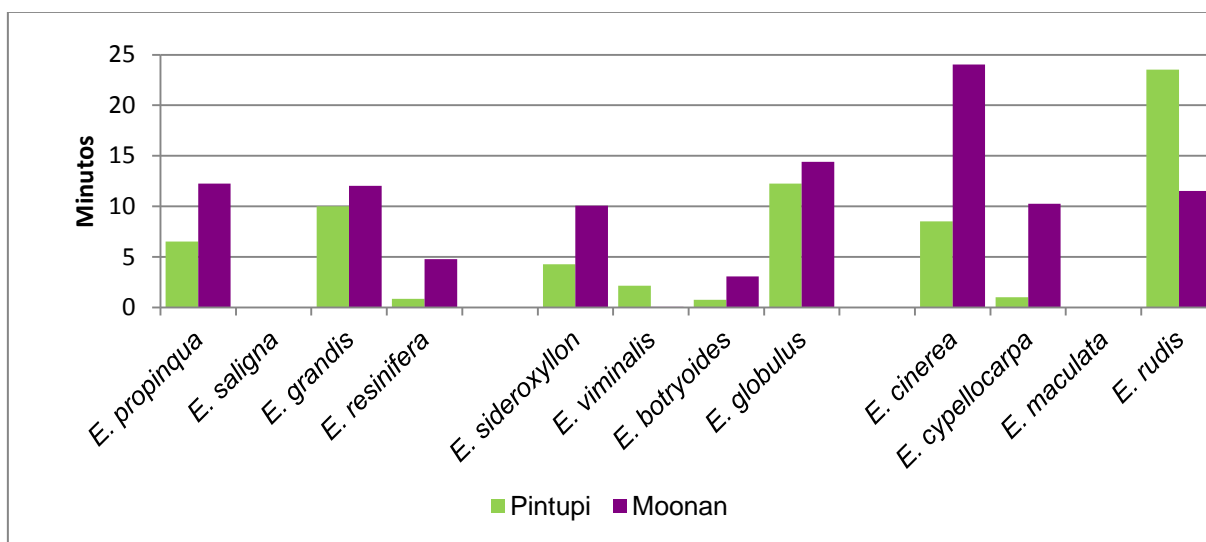
**Gráfico 8.** Consumo de folhagem, em média, por todos os indivíduos, de cada espécie de eucalipto, durante 24 horas.

#### 4.2.3. Tempo despendido, em média, no consumo de cada espécie de eucalipto, pelos machos

O Gráfico 9 ilustra, em média, os minutos que cada macho despendeu na ingestão de cada espécie de eucalipto, durante os primeiros sessenta minutos em que decorreu a observação, nos vários dias. Este gráfico diferencia-se do primeiro desta secção (Gráfico 7) devido ao facto de aqui estarem patentes as diferenças entre os indivíduos, neste caso os machos.

Verificou-se que, durante os primeiros sessenta minutos em que o novo alimento esteve disponível nas instalações dos machos, os Machos I (Pintupi) e II (Moonan) consumiram, em média, folhagem das espécies *E. rudis*, *E. cinerea*, *E. globulus*, *E. grandis* e *E. propinqua* durante mais tempo (Gráfico 9). Despenderam menos tempo na ingestão de folhagem de *E. saligna*, de *E. resinifera*, de *E. viminalis*, de *E. botryoides* e de *E. maculata*.

A observação do comportamento alimentar permitiu a recolha de informação sobre o tempo despendido nas atividades “ingere folhagem”, “movimenta-se” e “permanece quieto”. Estas informações, por não estarem completamente integradas no âmbito deste trabalho, e para a eventualidade de alguém delas necessitar, estão disponíveis nos Anexos (parte II), e são aqui apenas brevemente abordadas. O Macho I despendeu menos tempo, em média, do que o Macho II na alimentação, ingerindo durante menos tempo folhagem de cada espécie, à exceção do ocorrido com o terceiro grupo, em que ingeriu durante mais tempo folhagem de *E. rudis*.



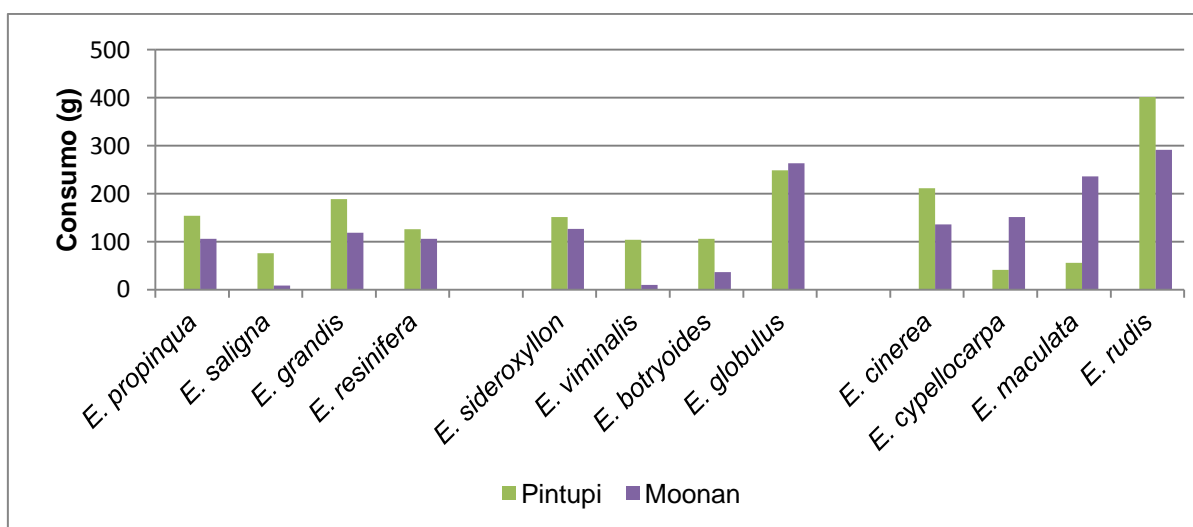
**Gráfico 9.** Minutos despendidos, em média, por cada koala do sexo masculino (Moonan e Pintupi) no consumo de cada espécie de eucalipto, durante os primeiros 60 minutos em que novo alimento esteve à disposição.



#### 4.2.4. Consumo médio, em gramas, de cada espécie de eucalipto, pelos machos

Pode observar-se no Gráfico 10, que ilustra o consumo de cada espécie de eucalipto em 24 horas, que os koalas do sexo masculino ingeriram principalmente folhagem de *E. rudis* e de *E. globulus*. Se o Macho I despendeu, durante a primeira hora em que o alimento esteve disponível menos tempo do que o Macho II na atividade de “ingerir folhagem”, verifica-se que, durante as 23 horas seguintes, inverteu esta tendência e ingeriu maior quantidade de folhagem, em média, do que o macho Moonan. Pode observar-se que o Macho I ingeriu maior quantidade de folhagem, em média, de todas as espécies à exceção de *E. globulus* (existindo, contudo, uma diferença mínima relativamente ao Macho II), *E. cypellocarpa* e *E. maculata*.

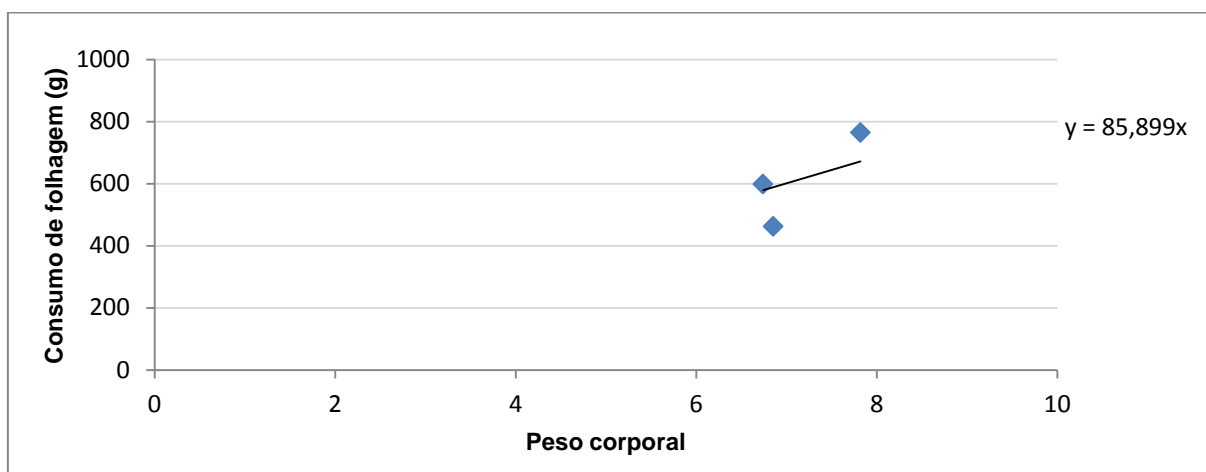
Registaram-se consumos diferenciados, principalmente nas espécies *E. saligna*, *E. viminalis* e *E. botryoides*, nas quais se verificou um maior consumo por parte do macho Pintupi, e das espécies *E. cypellocarpa* e *E. maculata*, em que se registou um maior consumo por parte do Macho II (Moonan).



**Gráfico 10.** Consumo médio, em gramas, de folhagem de cada espécie de eucalipto, pelos koalas do sexo masculino Pintupi e Moonan, durante 24 horas.

#### 4.2.5. Relação entre quantidade de folhagem ingerida e peso dos koalas

No Gráfico 11 representa-se a relação entre o consumo de folhagem (gramas), por dia, e peso corporal. Segundo estes dados, para cada quilo de peso, os koalas ingerem, em média, cerca de 86 gramas de folhagem fresca.



**Gráfico 11.** Relação entre o peso de cada indivíduo e o consumo total de folhagem por dia. Devido ao facto de as koalas do sexo feminino se encontrarem na mesma instalação e os valores de consumo de folhagem serem, então, relativos aos três indivíduos, efetuou-se a média dos valores referentes ao consumo e ao peso corporal. A reta que representa a relação entre o consumo e o peso corporal é  $y = 85,899x$ .

Os animais estudados apresentaram níveis de ingestão diferentes. Em média, o macho Pintupi ingeriu maior quantidade de folhagem que o macho Moonan, e este maior quantidade do que cada fêmea (assumindo-se que cada fêmea consumiu aproximadamente  $\frac{1}{3}$  da quantidade total consumida pelo grupo).

## SECÇÃO 4.3. RESULTADOS – DETERMINAÇÃO DOS CONSTITUINTES NUTRICIONAIS DO EUCALIPTO

Determinaram-se os teores de Matéria Seca, Cinza, Fibra Neutra Detergente (NDF, em inglês), Fibra Ácida Detergente (ADF, em inglês), Lenhina Detergente Ácida (ADL, em inglês) e Proteína Bruta (PB) de amostras de espécies de eucalipto utilizadas na alimentação dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa. O objetivo principal desta determinação foi obter informação sobre as características nutricionais do alimento fornecido aos koalas.

Incluíram-se na amostra as espécies de eucalipto provenientes da Mata do Escaroupim e do Instituto Superior de Agronomia (ISA).

Nas Tabela 8 e 9 estão presentes os teores médios, assim como o respetivo valor de desvio padrão, de Matéria seca, Cinza, NDF, ADF, ADL e Proteína Bruta das amostras das 21 espécies de eucalipto analisadas no âmbito deste trabalho. Nos Anexos (parte III), é possível encontrar, para todas as amostras, os valores relativos aos parâmetros referidos.

A representação gráfica da variação dos componentes nutricionais ao longo do período compreendido entre Setembro de 2012 e Janeiro de 2013 não evidenciou a existência de uma tendência ou padrão na variação entre espécies. Não se detetou igualmente a existência de correlações significativas, positivas ou negativas, entre os vários parâmetros analisados.

Devido à extensão desta dissertação, optou-se por não incluir neste trabalho as representações gráficas das variações nem as tabelas com os valores de correlação. Estes resultados serão, ainda assim, discutidos no quinto capítulo.

**Tabela 8.** Valores médios e respetivo valor de desvio padrão dos teores de matéria seca, cinza e fibra neutro detergente (NDF) de 21 espécies de eucalipto.

Espécies	Matéria Seca (%)	Cinza (% MS)	NDF (% MS)
<i>E. botryoides</i>	22 ± 19,2	3,85 ± 0,26	52 ± 3,1
<i>E. camaldulensis</i>	29,5 ± 10,2	4,86 ± 0,35	30,5 ± 10,7
<i>E. cinerea</i>	36,5 ± 3,1	3,62 ± 0,13	41,04 ± 17,88
<i>E. citriodora</i>	38	4,6	52,89
<i>E. crebra</i>	38,6 ± 5,4	3,78 ± 0,73	37,87 ± 0,69
<i>E. cypellocarpa</i>	31,5	4,8	28,72
<i>E. globulus</i>	31,7 ± 2,5	5,28 ± 1,01	32,93 ± 2,45
<i>E. grandis</i>	30,3	5,1	38,06
<i>E. maculata</i>	38,7 ± 3,5	4,14 ± 0,65	45,19 ± 4,87
<i>E. nicholii</i>	37,4	3,3	58,07
<i>E. nitens</i>	42,3	4,2	41,97
<i>E. occidentalis</i>	35,5	5,2	32,64
<i>E. propinqua</i>	36,9 ± 3,4	4,04 ± 0,92	40 ± 8,23
<i>E. punctata</i>	34,6 ± 2,0	4,18 ± 0,24	44,20 ± 2,78
<i>E. regnans</i>	35,4	3,9	41,05
<i>E. resinifera</i>	23,1 ± 20,3	4,30 ± 0,35	41,18 ± 6,62
<i>E. robusta</i>	34 ± 2,8	5,32 ± 0,8	34,69 ± 3,87
<i>E. rudis</i>	35,7 ± 3,2	4,88 ± 0,68	40,33 ± 1,92
<i>E. saligna</i>	29,1	4,6	54,02
<i>E. sideroxylon</i>	39,1	3,6	33,27
<i>E. viminalis</i>	32,4 ± 2,9	4,39 ± 0,46	36,99 ± 7,25

**Tabela 9.** Valores médios e respetivos valores de desvio padrão dos teores de ADF, ADL e proteína bruta de 21 espécies de eucalipto.

Espécies	ADF (% MS)	ADL (% MS)	Proteína Bruta (% MS)
<i>E. botryoides</i>	40,83 ± 3,79	25,35 ± 4,03	12,74 ± 1,26
<i>E. camaldulensis</i>	19,48 ± 6,7	10,13 ± 3,99	9,77 ± 5,7
<i>E. cinerea</i>	30,20 ± 15,44	19,86 ± 4,47	9,54 ± 1,17
<i>E. citriodora</i>	45,11	25,09	11,36
<i>E. crebra</i>	22,72 ± 0,35	11,19 ± 1,08	10,67 ± 0,77
<i>E. cypellocarpa</i>	19,50	10,55	8,48
<i>E. globulus</i>	21,26 ± 3,18	13,44 ± 3,64	9,68 ± 4,59
<i>E. grandis</i>	24,27	12,81	12,62
<i>E. maculata</i>	35,82 ± 1,58	21,80 ± 2,23	11,56 ± 1,83
<i>E. nicholii</i>	49,03	26,54	10,34
<i>E. nitens</i>	31,28	16,32	11,34
<i>E. occidentalis</i>	22,46	18,24	9,42
<i>E. propinqua</i>	29,35 ± 9,26	15,74 ± 8,73	10,82 ± 2,17
<i>E. punctata</i>	33,56 ± 1,45	17,41 ± 1,5	10,362 ± 1,89
<i>E. regnans</i>	25,89	12,18	13,49
<i>E. resinifera</i>	29,39 ± 5,92	15,03 ± 4,68	10,17 ± 1,5
<i>E. robusta</i>	22,84 ± 2,55	11,92 ± 2,71	10,53 ± 2,53
<i>E. rudis</i>	26,43 ± 2,56	14,37 ± 0,6	11,45 ± 3,55
<i>E. saligna</i>	47,98	27,39	14,57
<i>E. sideroxylon</i>	25,08	19,07	10,72
<i>E. viminalis</i>	24,43 ± 1,61	12,43 ± 2,81	14,53 ± 1,18

# Capítulo 5

## Discussão

---

## **SECÇÃO 5.1. DISCUSSÃO - SELETIVIDADE ALIMENTAR DOS KOALAS NO PERÍODO ENTRE 2008 E 2012**

---

### **5.1.1. Classificação do consumo atribuído pelos tratadores**

A alimentação equilibrada de espécies selvagens mantidas sob cuidados humanos exige, por um lado, um estudo aprofundado das características dos animais, nomeadamente as suas necessidades nutricionais, e, por outro, um conhecimento completo das propriedades nutricionais do alimento que lhes é fornecido. Não existem muitos Jardins Zoológicos com a capacidade de manter koalas devido ao facto de estes marsupiais se alimentarem de um alimento tão particular como é o eucalipto. Os eucaliptos apenas se desenvolvem em determinados climas, pelo que os jardins zoológicos com koalas ou se localizam nessas áreas ou colhem e transportam o alimento proveniente de um local distante, o que resulta bastante dispendioso. O Jardim Zoológico de Lisboa mantém, desde já há alguns anos, um registo sobre a alimentação fornecida aos koalas e o consumo da mesma. Esta informação auxilia o aprofundamento dos conhecimentos acerca das preferências alimentares daqueles indivíduos em particular, mantendo-os sob as melhores condições em termos alimentares. Além disso, pode possibilitar também uma melhor gestão dos eucaliptos utilizados para a alimentação dos animais.

O registo diário, por parte dos tratadores, do nível de consumo de cada espécie de eucalipto fornecida originou um grande volume de dados que foi, em parte, analisada neste estudo. Analisaram-se os registos diários correspondentes a cinco anos (2008-2012), dos consumos dos vários indivíduos, de cada espécie de eucalipto.

Este tipo de estudos, cuja informação foi recolhida ao longo de um período extenso, sem se seguir um método rigoroso, devem ter em especial atenção a fiabilidade dos dados que os sustentam. Para analisar o grau de rigor da classificação dos níveis de consumo, procedeu-se à recolha de alguns dados, cujo resultado foi ilustrado no Gráfico 1 (página 50). Verificou-se um elevado nível de correlação entre o nível de consumo registado pelos tratadores e o consumo efetivo, avaliado em gramas. Este rigor alcançado pelos tratadores deve-se, provavelmente, ao facto de os tratadores lidarem com os koalas e com este tipo de registo há bastantes anos, acumulando uma experiência que lhes permite classificar objetivamente o grau de desbaste de um molho e de o relacionar com o consumo ingerido. O Gráfico 1, portanto, validou os dados registados e serviu como ponto de partida para a análise da informação sobre a seletividade alimentar dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa no período compreendido entre 2008 e 2012. A reta que correlaciona os dois valores descreve-

se pela equação  $y = 59,33x + 29,57$ , sendo que  $x$  representa cada nível de consumo (0,1,2,3 ou 4) e  $y$  a quantidade total de folhagem ingerida para esse nível. Esta equação demonstra que, mesmo quando a classificação do consumo foi 0, se verificou a ingestão de cerca de 30 gramas de folhas.

Uma das dificuldades assinaladas pelos tratadores no processo de registo do nível de consumo de cada molho não se prendeu, como já verificado, com a determinação do grau de desbaste do molho, mas antes com a identificação da espécie de eucalipto. Como explicado no primeiro capítulo, a classificação de uma espécie de eucalipto pode tornar-se bastante complicada, devido à existência de muitas espécies, à semelhança entre algumas delas, e à possibilidade de formação de híbridos. A correta identificação de uma espécie de eucalipto requer uma análise da morfologia das folhas e a consideração das características da casca que reveste os troncos, dos opérculos e das flores (quando presentes), entre outras características. Assim sendo, a identificação rigorosa de uma espécie de eucalipto implica que se tenha em atenção todas estas características, sendo frequentemente apenas possível no campo. Tendo em conta que o alimento dos koalas chega ao Jardim Zoológico já em molhos que albergam as extremidades de pequenos ramos, compreende-se a dificuldade que os tratadores enfrentam. Contudo, é ainda necessário ter alguns pontos em consideração. Como anteriormente explicado, o eucalipto provém de dois locais, da Mata do Escaroupim e do ISA. Do primeiro local, considerando as espécies fornecidas aos koalas entre Setembro de 2012 e Janeiro de 2013, provêm frequentemente algumas espécies, como *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. punctata*, *E. robusta* e *E. viminalis*. Estas espécies, sendo mais frequentes, tornam-se mais facilmente reconhecíveis pelos tratadores e dão menos azo a erros na identificação dos molhos. O alimento proveniente do ISA é mais diversificado do que aquele proveniente da Mata do Escaroupim, pois estão plantadas no arboreto do primeiro local (ISA) cerca de trinta espécies de eucalipto, das quais é periodicamente colhida e levada folhagem para o Jardim Zoológico. No entanto, as árvores estão identificadas na base, e aquando da recolha dos molhos, identificam-se os mesmos, de acordo com a espécie de árvores de que são provenientes, o que facilita a tarefa aos tratadores. Os tratadores dispõem, ainda, do acesso a uma base de dados com informação acerca da morfologia das várias espécies de eucalipto, útil quando surgem espécies de eucalipto menos conhecidas. Contudo, apesar do visível empenho que aplicam na tarefa, é natural que surjam dúvidas, devido à complexidade de uma correta identificação das espécies. Presenciou-se que estas dificuldades acerca da correta identificação dos molhos, que depois servirá como base para o registo do consumo, causam um certo incómodo aos tratadores. Contudo, tendo em conta todo o processo, apesar de se dever assumir a possibilidade da existência de alguns erros na identificação, estes mesmos ficarão,



provavelmente, mitigados no grande volume de dados disponíveis, e, portanto, a fiabilidade dos dados em que esta parte do estudo se baseia não será afetada.

### 5.1.2. Comparação dos níveis médios de preferências entre indivíduos

Na análise das preferências médias entre indivíduos e grupos, relativas a espécies de eucalipto provenientes da Mata do Escaroupim, verificou-se a existência de diferenças significativas entre grupos (relembra-se que a categoria “grupos” engloba tanto os indivíduos, Moonan, Kiwa e Bamba, como os grupos, “Fêmeas” e “Kiwa + Fêmeas”) para todas as espécies analisadas à exceção de *E. maculata* ( $P = 0,3$ ) e de *E. rudis* ( $P = 0,215$ ). Como referido, em dezassete das dezanove espécies de eucalipto analisadas, foi detetada a existência de diferenças significativas entre os níveis de preferência dos indivíduos/grupos. Estas diferenças nos níveis de preferências para determinada espécie são mais facilmente comparadas nos animais que não se encontram em grupo, ou seja, entre os machos (Gráfico 2). Por exemplo, o macho Kiwa destaca-se por apresentar um nível de preferência superior aos outros machos, Bamba e Moonan, em nove espécies (*E. cinerea*, *E. globulus*, *E. leucoxylon*, *E. macarthuri*, *E. occidentalis*, *E. ovata*, *E. punctata*, *E. tereticornis* e *E. viminalis*), mas detém um nível de preferência inferior aos outros machos em quatro outras espécies (*E. grandis*, *E. maculata*, *E. resinifera* e *E. saligna*). Se os níveis de preferência do macho Kiwa fossem consistentemente superiores para todas as espécies, poder-se-ia argumentar que, possivelmente, seria um macho mais pesado, e portanto com maiores necessidades de ingestão de folhagem, o que se traduziria por um aumento nos níveis de preferência por cada espécie. Contudo, não é isso que se verifica – se, por um lado, o macho Kiwa aparenta exibir um nível de preferência elevado para algumas espécies, por outro, apresenta níveis reduzidos para outras.

A existência de diferenças significativas entre indivíduos, relativamente ao nível de preferência para uma mesma espécie, foi também reportada por Higgins *et al.* (2011). Estas diferenças podem ser explicadas por variações a nível fisiológico, como o sexo, a idade, e o estado reprodutivo. Um exemplo da importância do estado fisiológico do animal na influência na seletividade alimentar é o facto de os requerimentos de proteína aumentarem em determinadas fases da vida dos marsupiais. São superiores nas fases iniciais de crescimento, e no caso das fêmeas voltam a aumentar durante a gestação e a lactação, durante as quais as fêmeas aumentam a taxa de ingestão de folhagem (Hume, 2005, Krockenberger & Hume, 2007). O aumento da dentição pode resultar num aumento de até 40% do número de folhas ingeridas durante o dia (Higgins *et al.*, 2010). Outra possibilidade é a influência das características sensoriais nas decisões alimentares – por exemplo, os indivíduos podem possuir capacidades diferentes de identificar, através do olfato ou do

paladar, determinadas toxinas ou componentes nutricionais da folhagem, e, baseando-se nessas informações, optar por uma ou outra espécie de eucalipto.

A própria experiência alimentar de cada indivíduo pode ser determinante, ou seja, as suas decisões alimentares podem depender das experiências anteriores. Os animais podem ser capazes de distinguir entre um alimento apropriado e um não apropriado com base nas consequências positivas e negativas associadas a determinada experiência. O desenvolvimento de aversões condicionadas pode surgir quando os animais aprendem a evitar determinado alimento devido à associação entre a visão da comida, o sabor ou o odor e o *feedback* de náusea (Moore & Foley, 2000). Acrescenta-se ainda a possibilidade de os animais se habituarem à palatabilidade característica de determinadas espécies de eucalipto, apresentando os mesmos relutância em se alimentarem de espécies com as quais tenham tido pouco ou nenhum contacto. As espécies de eucalipto variam nas regiões australianas onde a espécie *Phascolarctos cinereus* se encontra distribuída. Foram, efetivamente, determinadas preferências distintas a nível regional – por exemplo, alguns estudos na região de Victoria mostraram que os koalas deste local preferiam *E. viminalis*, ao invés daqueles de Phillip Island, que preferiam *E. globulus* (Moore & Foley, 2000). Sob cuidados humanos, os koalas não estarão sujeitos ao contacto com uma grande variação das espécies de eucalipto, caso o grupo de espécies com as quais sejam alimentados seja fixo. Contudo, é necessário ter em conta que o grupo de espécies fornecidas pode variar, por razões várias. Além disso, devido ao sistema de cooperação entre Jardins Zoológicos, ocasionalmente ocorrem trocas de animais para aumentar a variabilidade genética do grupo. Assim, não se deve assumir que o *background* alimentar de todos os animais é igual, podendo existir diferenças capazes de influenciar as preferências dos animais por determinadas espécies de eucalipto.

Apesar das diferenças existentes entre grupos / indivíduos, verificou-se que existem espécies de eucalipto mais “populares” para todos os indivíduos, como é o caso de *E. globulus*, *E. botryoides*, *E. leucoxylon*, *E. macarthuri*, *E. occidentalis*, *E. ovata*, *E. polyanthemus*, *E. robusta* e *E. tereticornis*. É possível que estas espécies se caracterizem por uma maior palatabilidade, detendo, por exemplo, um reduzido nível de compostos tóxicos e/ou um elevado conteúdo proteico. Segundo Moore *et al.*, (2005), a concentração de compostos CFF na folhagem representa o principal determinante da ingestão dos koalas, e portanto influencia os níveis de preferência de cada espécie. Loney *et al.*, (2006) sugere que a concentração dos compostos secundários é mais significativa quando o nível de azoto da folhagem é menor. Assim, é possível que a importância do conteúdo proteico das folhas varie com a concentração de compostos secundários. Não foram realizadas análises no âmbito deste trabalho que determinem a concentração destes compostos na folhagem do eucalipto recolhido, pelo que não é possível determinar o papel destes compostos na

seletividade alimentar dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa. Com vista a aprofundar do conhecimento sobre a qualidade nutricional da folhagem fornecida a estes animais, sugere-se a análise dos compostos CFF na folhagem de eucalipto como um trabalho a realizar futuramente.

Ainda relativamente aos níveis de preferência individuais, verificou-se que as médias do nível de preferência dos grupos “Fêmeas” e “Fêmeas + Kiwa” foram consistentemente mais elevadas (à exceção de *E. rudis*) do que as médias do nível de preferência dos indivíduos, o que indica um menor grau de seletividade dos grupos. Esta diferença pode ser devida à maior competição existente pelo alimento quando os indivíduos se encontram reunidos numa mesma instalação. Como possível ensaio a realizar no futuro, sugere-se a disponibilização de maior número de molhos na instalação das fêmeas e avaliar o grau de seletividade das mesmas. É possível que, face a uma maior abundância de alimento, as fêmeas se tornem mais seletivas.

As espécies de eucalipto analisadas apresentaram ainda diferenças significativas na variável mês-ano para todas as espécies analisadas, o que indica que os níveis de preferências não se comportaram do mesmo modo ao longo de cada mês e de cada ano. É possível que estas variações estejam relacionadas com variações nas características físicas e químicas da folhagem de eucalipto, e que estas, por sua vez, sejam influenciadas por variações climáticas.

### **5.1.3. Comparação dos níveis de preferência da folhagem proveniente do Instituto Superior de Agronomia e da Mata do Escaroupim**

A discrepância detetada entre as médias dos níveis de preferência da folhagem proveniente da Mata do Escaroupim e da folhagem proveniente do Instituto Superior de Agronomia pode ter várias explicações, que serão aqui abordadas.

As características nutricionais da folhagem podem influenciar os níveis de preferência dos koalas para determinada espécie de eucalipto. A composição nutricional poderá, então, ser uma explicação para as desigualdades encontradas. Apesar de ter sido analisada a composição da folhagem de eucalipto neste estudo, esta hipótese não pode ser debatida em profundidade devido a dois motivos. As análises nutricionais não incluíram a determinação das concentrações dos componentes anti-nutricionais da folhagem, que é sabido possuírem uma grande importância na seletividade alimentar dos koalas. Poderia ser possível uma comparação dos parâmetros que foram, efetivamente, determinados, para as espécies de eucalipto provenientes dos dois locais, mas apenas se o grupo de espécies de eucalipto provenientes de cada local tivesse sido idêntico. Contudo, não foi isso que sucedeu (Tabela X e XI dos Anexos), devido ao facto de as amostras analisadas serem uma amostra do

alimento que foi fornecido aos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa. Relembra-se que, na recolha dos molhos de eucalipto para a alimentação dos koalas, a escolha das espécies de eucalipto de onde são recolhidas as ramagens depende da abundância de rebentos nas mesmas, e esta depende das condições meteorológicas. Consequentemente, as espécies de eucalipto provenientes de um e de outro local variaram, o que impediu uma análise comparativa e estatisticamente significativa das características nutricionais de um e de outro local.

A variabilidade das concentrações de compostos anti-nutricionais no eucalipto está parcialmente sob controlo genético (Andrew *et al.*, 2007). É possível que existam diferenças a nível genético nas populações dos dois locais, Mata do Escaroupim e Instituto Superior de Agronomia, que influenciem as concentrações de compostos tóxicos na folhagem. Por exemplo, para a espécie *E. globulus*, foi detetada uma evidente diferente suscetibilidade aos herbívoros, que foi explicada por diferenças de ordem genética (O'Reilly-Wapstra *et al.*, 2002). A proveniência das sementes que originaram as árvores pode, então, ser uma explicação para a disparidade verificada relativamente aos níveis médios de preferência observados para a folhagem de eucalipto proveniente dos dois locais.

A diferença de idades das árvores dos dois locais pode desempenhar um papel importante na seletividade alimentar dos koalas, pelo que este facto pode representar uma outra explicação para as diferenças encontradas. Uma árvore adulta possui proporcionalmente uma menor quantidade de rebentos do que uma árvore mais jovem. As árvores do ISA são consideravelmente mais jovens do que as árvores da Mata do Escaroupim. No arboreto do ISA, que possui um menor extensão do que o arboreto da Mata do Escaroupim, as colheitas são feitas através da “poda” de árvores que possuam rebentos naquela altura, ao contrário da Mata do Escaroupim, onde as árvores são mais altas e de uma maior dimensão, e donde se colhem ramos de maior tamanho. Estas diferenças, que poderiam passar despercebidas são, na minha opinião, fundamentais. É mais crítico para uma árvore jovem sofrer a poda de alguns ramos do que para uma árvore adulta, pois a proporção de folhas retiradas será, em princípio, superior na primeira. A poda frequente que as árvores sofrem no ISA poderá ter provocado a produção de compostos secundários, para defesa das mesmas. Em situações naturais, a “predação” do eucalipto é realizada por animais, que poderão ser dissuadidos de continuar o consumo de folhagem de determinada árvore caso ocorram na folhagem compostos tóxicos para os mesmos. Esta eventual maior produção de metabolitos secundários na folhagem proveniente do ISA pode provocar nos koalas uma reação dissuasora do consumo, fazendo com que o nível de preferência para as árvores do ISA seja menor. Uma possível experiência a realizar seria deixar crescer algumas árvores do ISA sem que se procedesse à poda nem à recolha de molhos das mesmas. Se após um longo período se verificasse que o nível de preferência das árvores cujos galhos não foram

cortados fosse idêntico ou superior ao nível de preferência das árvores do Escaroupim, isso poderia sugerir que os koalas apresentam uma preferência por árvores sujeitas a pouco ou nenhum desbaste. A preferência dos koalas em liberdade por árvores grandes foi referida por Moore e Foley (2000), contudo não se esclareceu se esta preferência se prende apenas com a seletividade alimentar ou se outros fatores também estão em jogo, como por exemplo o facto de as árvores grandes poderem proporcionar maiores oportunidades de abrigo.

Uma outra explicação para um menor nível de preferência das espécies do ISA foi já abordada e apenas explica um menor grau de preferência se as espécies forem abordadas de um modo global. Esta explicação prende-se com o facto de os koalas poderem ter sofrido uma “educação” alimentar, ou seja, preferirem aquelas espécies com as quais estão familiarizados. Os koalas são alimentados com folhagem proveniente do ISA há sensivelmente dois anos. A diversidade do grupo de espécies que provém deste local é superior àquela proveniente da Mata do Escaroupim, e é possível que os koalas não reajam tão bem a essas espécies como reajam a espécies com as quais estejam habituados. Caso esta hipótese tenha fundamento, é possível que os koalas aumentem, progressivamente, o nível de preferência para as espécies provenientes do ISA.

#### **5.1.4. Análise da variação do nível de preferências ao longo do ano**

As variações médias observadas no nível de preferências para cada espécie de eucalipto, apresentado pelos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa, podem ser devidas a variações sazonais no eucalipto. Estes eventos, influenciados por variações climáticas sazonais, podem provocar, eventualmente, uma maior concentração de água, proteína ou metabolitos secundários na folhagem, fazendo com que os níveis de preferência se alterem. A variação no nível de preferências de acordo com a época do ano é também referida em vários estudos referidos por Moore e Foley (2000).

Como referido no Capítulo 4, encontraram-se diferenças significativas nos níveis de preferência entre meses e anos, ou seja, os níveis de preferência efetivamente variaram de acordo com a altura do ano, mas essa variação não se comportou sempre do mesmo modo. A consulta do Gráfico 6 (página 57) poderá, ainda assim, ser útil para se proceder a uma oferta diferenciada aos koalas durante o ano, oferecendo em cada período as espécies de eucalipto cujos níveis de preferência são, em média, mais elevados. Esta oferta diferenciada poderá ainda permitir uma melhor gestão dos arboretos.

### **5.1.5. Conclusão e trabalhos futuros no âmbito da análise da seletividade alimentar**

Considera-se que os tratadores do Jardim Zoológico de Lisboa têm realizado um trabalho notável na recolha de dados sobre este tema, quer devido ao grau de precisão que desenvolveram (Gráfico 1) como devido ao empenho que colocam na tarefa. Para a otimização deste trabalho, sugere-se que se proceda à identificação dos eucaliptos provenientes da Mata do Escaroupim, no terreno, por pessoal especializado.

## **SECÇÃO 5.2. DISCUSSÃO - TESTES DE CAFETARIA**

---

Os resultados dos testes de cafeteria efetuados, para serem significativos, teriam de ser correspondentes a um período de tempo mais alargado do que aquele que constituiu o ensaio. Contudo, foi possível observar alguns pontos que aqui se referem sumariamente.

### **5.2.1. Preferências iniciais**

Observou-se a existência de uma tendência por parte dos animais para ingerirem folhagem de determinadas espécies de eucalipto em primeiro lugar. Durante a primeira hora de observação, os koalas despenderam mais tempo na ingestão de *E.globulus*, *E.cinerea*, *E.propinqua*, e *E.rudis*. Estas espécies aparentaram ser, inicialmente, mais atrativas para os koalas do que as restantes disponíveis, e podem então ser encaradas como as preferências “iniciais”. É possível que as espécies indicadas apresentem uma maior palatabilidade. Refere-se ainda a tendência dos koalas sob cuidados humanos para a ingestão em primeiro lugar dos rebentos de um molho, e portanto não ser de descartar a possibilidade de os koalas se aproximarem primeiro daqueles molhos com maior quantidade de folhagem tenra. Os rebentos possuem maior quantidade de água e proteína que a folhagem mais madura, componentes que, como explicado, são em geral parcos na folhagem de eucalipto, pelo que a ingestão preferencial dos mesmos pode ser proveitosa do ponto de vista nutricional. Relembra-se, contudo, que os rebentos são igualmente ricos em compostos tóxicos, o que poderá desencorajar a ingestão dos mesmos.

### **5.2.2. Preferências finais**

Verificou-se que as espécies mais ingeridas durante 24 horas foram *E. propinqua*, *E.grandis*, *E.globulus*, *E.cinerea* e *E.rudis*, pelo que podem ser encaradas como representativas das preferências “finais”. As espécies que registaram um maior consumo foram as mesmas que

constaram no grupo das preferências iniciais, além da espécie *E. grandis*. É natural que o consumo inicial observado se relacione com o consumo final, pois se a reação dos animais é ingerir imediatamente, é provável que esta espécie vá registar um elevado consumo total, e o oposto também se verifica.

Esperava-se um maior consumo da espécie *E.viminalis*, que é referida por vários autores como uma das espécies mais selecionadas pelos koalas (Zoidis & Markowitz 1992), contudo também se refere que a preferência por esta espécie é sazonal (Moore & Foley 2000), o que pode então explicar o reduzido grau de consumo desta espécie. Os mesmos autores referem que os koalas rejeitam folhagem de árvores jovens de *E. viminalis*, o que está de acordo com o observado, pois a folhagem utilizada neste estudo foi proveniente de árvores jovens. A espécie *E.globulus* é referida como preferida em vários estudos (Moore & Foley 2000), tendo-se observado neste ensaio que a espécie referida registou efetivamente um elevado consumo.

Se, por um lado, se notou que a preferência demonstrada inicialmente para algumas espécies se manteve ao longo das 23 horas seguintes, por outro lado registou-se que algumas espécies de eucalipto que não foram inicialmente consumidas, foram alvo de algum grau de consumo durante as restantes 23 horas, como é o caso de *E. saligna*, *E. resinifera*, *E. viminalis*, *E. botryoides*, *E. cypellocarpa* e *E. maculata*. Tal pode estar relacionado com o facto de os animais sob cuidados humanos se depararem, comparativamente aos animais selvagens, com uma oferta limitada de alimento, pelo que, para satisfazer as suas necessidades nutricionais, têm de se cingir ao alimento disponível. Contudo, o Jardim Zoológico de Lisboa oferece, principalmente no caso dos koalas do sexo masculino, uma quantidade abundante de alimento.

Considerando a natureza tóxica de alguns compostos secundários presentes na folhagem de eucalipto, como é o caso dos terpenos, e o facto de a ingestão deste tipo de substâncias não exceder determinado limite (Foley & Moore 2005), não é de descartar a hipótese de os koalas diversificarem as espécies de eucalipto ingeridas precisamente para não excederem determinado limiar de destoxificação.

### **5.2.3. Diferenças individuais a nível das preferências**

Observou-se que as preferências dos machos foram, de um modo geral, semelhantes, registando-se consumos diferenciados principalmente das espécies *E. saligna*, *E. viminalis* e *E. botryoides*, nas quais se verificou um maior consumo por parte do Macho I (Pintupi), e das espécies *E. cypellocarpa* e *E. maculata*, em que se registou um maior consumo por parte do Macho II (Moonan).

Os fatores que influenciam a seletividade foram já discutidos no primeiro capítulo, contudo referem-se aqui sumariamente alguns pontos. Relacionam-se, por um lado, com o alimento, e por outro, com o indivíduo, acrescentando-se o facto de os koalas possuírem preferências individuais para determinadas espécies de eucaliptos (Higgins, 2011, Moore & Foley 2000). As visitas de um koala a determinada árvore (neste caso, aplica-se o termo “molho”) são influenciadas tanto por aspetos negativos do alimento (presença de compostos secundários) como por aspetos positivos (proteína) da folhagem (Moore *et al.*, 2010). No ensaio realizado, os molhos de eucalipto, apesar de serem da mesma espécie, nem sempre foram originários da mesma árvore, o que contribuiu para o aumento da variabilidade na composição química da folhagem oferecida. É possível que as espécies que registaram um menor consumo possuam uma maior concentração de compostos tóxicos. Além das diferenças a nível fisiológico entre os indivíduos referidos, os koalas podem ter sofrido diferentes “educações alimentares”, ou seja, as experiências passadas podem condicionar as decisões alimentares no presente (Moore, 2006). Por exemplo, o Macho I (Pintupi) chegou recentemente ao Jardim Zoológico, podendo possuir um *background* alimentar diferente do Macho II (Moonan).

Apesar de os testes de cafeteria realizados não possuírem dimensão suficiente para se verificar se as diferenças a nível das preferências individuais são estatisticamente significativas, os comportamentos observados e os dados recolhidos estão de acordo com os resultados da primeira parte deste estudo (ver página 50), em que se comprovou a existência de preferências individuais.

#### **5.2.4. Reação dos koalas aos molhos de eucalipto**

A informação relativa às atitudes inicialmente manifestadas pelos koalas aquando o contacto com os molhos de eucalipto encontra-se nos Anexos e é aqui discutida sumariamente. A análise da reação aos molhos de cada espécie de eucalipto foi distribuída em três categorias: “ingerir folhagem sem cheirar previamente”, “cheirar e ingerir folhagem”, “cheirar e não ingerir folhagem”.

Verificou-se que os koalas do sexo masculino ingeriram folhagem sem cheirar previamente da espécie *E. sideroxylon*. A espécie *E. grandis* foi, do grupo a que pertencia (grupo I de espécies) a que registou um maior consumo, em média, por cada macho. A espécie *E. sideroxylon* foi também ingerida imediatamente por ambos os machos, apresentando o segundo maior consumo, em média, do grupo II de espécies. Quando confrontadas com as espécies do grupo I, as fêmeas Koomeela e Orana ingeriram sem cheirar previamente folhagem de *E. propinqua*, e esta espécie foi a mais consumida, em média, pelas fêmeas. A espécie *E. globulus* foi também ingerida imediatamente por Koomeela.



Registou-se que alguns molhos se inseriram na classificação “cheirar e não ingerir folhagem”, ou seja, que após uns momentos junto do molho, em que os koalas, aparentemente, avaliaram o molho através do olfato, não ocorreu consumo de folhagem. De realçar o facto de a ingestão destas espécies não ter ocorrido naquele momento, em que os animais estiveram a ser observados, não significar que os animais não tenham ingerido aquele molho mais tarde, após ter decorrido o período de observação. No caso do macho Moonan, essas espécies foram *E. resinifera*, *E. maculata* e *E. botryoides*, e, no caso do macho Pintupi, foram *E. resinifera*, *E. maculata* e *E. saligna*. No caso das fêmeas, o número de espécies que não foram consumidas após serem cheiradas foi superior, *E. resinifera*, *E. saligna*, *E. grandis*, *E. botryoides*, *E. viminalis*, *E. sideroxylon*, *E. maculata*, *E. rudis* e *E. cypellocarpa*.

Relativamente ao consumo total, verificou-se que as espécies *E. resinifera* e *E. saligna* foram as menos populares para todos os indivíduos/grupos, a espécie *E. viminalis* foi a menos consumida no caso do Moonan e das fêmeas, e a segunda menos consumida no caso do macho Pintupi, em que a menos consumida foi *E. botryoides*. Quanto ao grupo III de espécies, a espécie *E. cypellocarpa* foi a menos consumida. Aparentemente, existiu uma certa tendência para um elevado consumo total daquelas espécies que registaram uma ingestão imediata pelos koalas, e o oposto também se verificou.

É interessante observar que, por exemplo, a espécie *E. rudis* não foi imediatamente ingerida por Koomeela nem Orana, mas que posteriormente registou um consumo médio elevado, aparecendo como a segunda mais consumida do grupo fêmeas. Este facto pode estar relacionado com diferenças de preferências a nível individual. Outra explicação, mais provável do nosso ponto de vista, prende-se com o facto de, perante uma quantidade de alimento limitado e a “competição” com outras fêmeas, uma espécie que inicialmente não é atrativa o passar ser quando a folhagem das restantes, preferidas relativamente a essa, ter sido já ingerida, e, assim, a espécie que apresentou uma preferência inicial reduzida, apresentar um elevado consumo final.

Estes diferentes comportamentos sublinham a variabilidade existente dentro de cada espécie de eucalipto, fazendo com que os animais avaliem cada molho em particular (Lawler *et al.*, 1998). No processo de analisar a qualidade de cada molho através do olfato, os terpenos voláteis desempenham provavelmente um papel essencial. Pensa-se que o terpeno 1,8 cineole atua como um indicador da presença de compostos CFF, pois, sendo volátil, permite que os herbívoros o detetem sem necessidade de provar a planta (Millner & Kemp, 2011). É possível que a capacidade de avaliar a qualidade nutricional ou a palatabilidade de um molho difira de indivíduo para indivíduo e que seja desenvolvida ao longo do tempo. Além disso, é provável que seja mais fácil para os koalas detetarem, através do olfato, terpenos diferentes do que concentrações diferentes de terpenos (Moore

et al., 2004b). Por vezes, observou-se que os koalas cheiraram atentamente não apenas o molho de eucalipto, mas cada ramagem em particular, selecionando apenas as folhas que lhes pareceram adequadas. Também se observou, por vezes, que, após cheirar demoradamente um molho, o koala ingeriu uma folha, e parou a ingestão. É possível que, quando não são capazes de obter toda a informação através do olfato, necessitem de provar uma porção para averiguar a qualidade geral do ramo.

#### **5.2.5. Duração das refeições**

Verificou-se que o tamanho das refeições variou entre indivíduos, pois, aquando a observação comportamental, alguns despenderam mais tempo no consumo de folhagem do que outros (ver pp 103 -106, Anexos). O tempo despendido no consumo de folhagem pode estar relacionado com o próprio alimento, pois os koalas respondem a concentrações crescentes de CFF através da ingestão de menor quantidade de folhagem por refeição, refeições mais curtas e a uma menor velocidade (Marsh, Wallis, & Foley, 2007). As fêmeas aparentaram demonstrar uma maior tendência inicial para a ingestão de alimento do que os machos, o que pode estar relacionado com o facto de estarem sujeitas a uma maior competição no alimento por estarem reunidas na mesma instalação.

Os machos registaram um maior consumo no mês de Junho, que pode estar relacionado com o facto de uma das fêmeas estar, na altura, com o cio, provocando maiores níveis de atividade nos machos.

#### **5.2.4. Breves referências a comportamentos alimentares observados**

Observou-se na fêmea Bunyarra um comportamento compatível com “mericismo” (*mericism*, em inglês), comportamento referido por Logan (2001). Este comportamento foi referido no primeiro capítulo e tem algumas semelhanças com a ruminação. Observou-se que a fêmea, após uma refeição de aproximadamente dez minutos, se colocou junto a um ramo, na posição de descanso, tendo-se observado um movimento ténue das mandíbulas durante cerca de cinco minutos, que foi compatível com mericismo. A fêmea Bunyarra é a mais velha do grupo, e provavelmente possui uma dentição menos eficaz na segmentação da folhagem, recorrendo possivelmente ao mericismo para otimizar a partição da folhagem e assim aumentar a digestibilidade da mesma.

Observou-se um comportamento para o qual não foi encontrada nenhuma referência na literatura. Observou-se que a fêmea Koomeela, exibiu uma vocalização em tom grave e de reduzido volume, simultânea à ingestão ávida de folhagem, em que se observou a ingestão de uma grande quantidade de folhas tenras e maduras de determinados molhos. Os

tratadores dos koalas referiram que a fêmea referida emite frequentemente esse tipo de vocalização, simultaneamente à ingestão de alimento.

#### **5.2.5. Relação entre peso corporal e consumo**

Calculou-se que os animais do Jardim Zoológico ingerem, em média, 86 gramas de folhagem fresca por cada quilo de peso corporal, por dia. Contudo, é mais apropriado avaliar o consumo considerando o peso metabólico e o valor de matéria seca da folhagem. Considerando que o valor médio de matéria seca estimado nas análises laboratoriais foi de 35 %, verificou-se que os koalas, por cada quilo de peso metabólico, ingerem 30 gramas matéria seca de folhagem ( $30 \text{ g} / \text{kg}^{0.75}$ ) em cada dia. Este valor é apenas ligeiramente inferior aos valores estimados através de diferentes técnicas, que variaram entre 31 e 57  $\text{g} / \text{kg}^{0.75}$  em condições de não amamentação (Moore & Foley, 2000), pelo que se considera que os koalas do Jardim Zoológico ingerem uma quantidade de folhagem condizente com os valores referidos na literatura.

#### **5.2.6. Conclusão e trabalhos futuros no âmbito dos testes de cafeteria**

A análise das preferências em testes de cafeteria deve sempre ter em conta que a seletividade é relativa, ou seja, que os animais optam por determinado alimento face à escolha disponível. Apesar da reduzida extensão do estudo, e apesar da aparente existência de diferenças individuais, houve espécies que foram alvo de um consumo superior (*E. propinqua*, *E. globulus*, *E. rudis* e *E. cinerea*). Observou-se a existência de determinadas reações aos molhos de eucalipto, que podem estar relacionadas com uma menor ou maior preferência por determinada espécie e com o consumo total registado para cada uma. Futuramente, seria interessante estender o estudo de forma a comprovar a existência de variação sazonal nas preferências (detetada na análise da seletividade no período de 2008 e 2012) e a existência de preferências a nível individual. Seria ainda interessante alongar a análise comportamental de modo a caracterizar devidamente os comportamentos alimentares referidos no ponto 5.2.4..

## SECÇÃO 5.3. DISCUSSÃO - DETERMINAÇÃO DOS CONSTITUINTES NUTRICIONAIS DO EUCALIPTO

---

O sistema de análise aproximada divide os alimentos em seis frações: humidade, cinza, proteína bruta, extrato de éter, fibra bruta e extrativos livres de azoto. Neste trabalho, foram determinados os três primeiros e, ao invés de se determinar a fibra bruta, foi efetuada a determinação sequencial da fibra detergente (NDF, ADF e ADL).

### 5.3.1. Humidade

O conteúdo de humidade é determinado através da diferença de peso apresentada por alimento, quando seco a temperatura de 100°C, até obtenção de peso constante (MacDonald *et al.*, 2010).

O conteúdo de humidade da folhagem de eucalipto é importante pois os koalas são animais que obtêm praticamente toda a água de que necessitam através da ingestão de folhagem. O limiar mínimo de humidade para a folhagem de eucalipto ser selecionada proposto por Hume & Esson (1993) foi de 55%. As amostras que apresentaram o teor mais reduzido de humidade foram pertencentes às espécies *E. nitens*, proveniente do ISA em Outubro, e *E. crebra*, proveniente do mesmo local em Novembro, ambas com 58% de humidade. Estes valores opõem-se ao valor máximo de humidade encontrado (87%) na amostra de *E. camaldulensis*, proveniente da Mata do Escaroupim em Setembro. Se todas as espécies analisadas ultrapassam o limiar proposto por Hume & Esson, não ultrapassam aquele proposto por Pahl & Hume (1990), que afirmam que a folhagem deve possuir um valor mínimo de 65% para ser atrativa para os koalas. Averiguou-se que apenas 70% das espécies analisadas apresentou um valor de humidade superior a 65%. Os limiares de humidade devem ser utilizados cuidadosamente na avaliação da qualidade alimentar de folhagem de eucalipto, na medida em que variam de acordo com as necessidades advindas da termorregulação e não podem ser aplicadas a toda a folhagem de eucalipto, em todas as circunstâncias (Moore & Foley, 2000). O facto de os koalas terem sempre à disposição água nas instalações pode compensar o reduzido teor de humidade da folhagem, contudo é de realçar o facto de estes animais não terem por hábito beber. Foi registada uma elevada incidência de mortalidade de koalas da ilha de St Bees (Austrália) entre 2001 e 2003, e esta foi associada a um reduzido conteúdo em humidade da folhagem (Clifton, 2010), o que realça a importância do teor de humidade da folhagem para a manutenção da saúde dos indivíduos da espécie *Phascolarctos cinereus*.

### 5.3.2. Cinza

O conteúdo de cinza é determinado através da combustão de um alimento de peso conhecido a 550°C, até todo o carbono ter sido removido. O resíduo que permanece é a cinza e representa os constituintes inorgânicos do alimento. A cinza é composta maioritariamente por sílica, contudo a cinza pode ainda conter material de origem orgânica, como enxofre e fósforo de proteínas. O conteúdo em cinza é útil na medição do conteúdo mineral total e pode ser indicativo de contaminação do alimento com solo. Os animais não possuem necessidades de cinza *per se*, antes requerem elementos minerais individuais contidos na mesma (MacDonald *et al.*, 2010).

Os valores de cinza encontrados neste estudo estão de acordo com os encontrados por Ullrey *et al.*, (1981), mas não com os encontrados por Zoidis & Markowitz (1992). Os valores reportados pelos últimos são consideravelmente superiores, na ordem dos 20 a 26%, contrastando com os encontrados neste trabalho, na ordem dos 4 a 6%. Ullrey *et al.*, (1981) analisaram o conteúdo de cinza em folhagem selecionada e em folhagem não selecionada por koalas e verificaram que não existiram diferenças significativas neste parâmetro para os dois grupos. Estes autores avaliaram ainda os minerais cálcio, fósforo, sódio, potássio e magnésio dos dois grupos de folhagem e verificaram que o cálcio, o fósforo e o potássio apresentaram níveis superiores no grupo de folhagem selecionada. Para os minerais sódio e magnésio não foram encontradas diferenças significativas nos dois grupos. Uma vez que foram encontradas diferenças apreciáveis destes minerais na folhagem consumida e não consumida, considera-se que, tal como afirmado por Ullrey *et al.*, (1981) o fornecimento de espécies variadas aos koalas assegurará a manutenção de uma dieta equilibrada relativamente a estes elementos.

### 5.3.3. Proteína Bruta

As proteínas são compostas por aminoácidos e todos os aminoácidos contêm azoto como parte do grupo amina. No geral, a proteína contém cerca de 16% de azoto. A concentração de azoto é medida através dos procedimentos Kjeldahl, em que o alimento é fervido em ácido sulfúrico concentrado, resultando na oxidação completa de todo o material orgânico. As proteínas e os aminoácidos são completamente degradados e o seu azoto é libertado na forma de  $\text{NH}_4^+$ . A reação é depois alcalinizada, convertendo-se o  $\text{NH}_4^+$  em  $\text{NH}_3$ . Executa-se uma destilação a vapor, ficando o  $\text{NH}_3$  retido numa solução de ácido bórico. A concentração de  $\text{NH}_3$  é medida por titulação. Assume-se que o azoto é derivado de proteína contendo 16% de azoto, e portanto a multiplicação do valor de azoto total por 6,25 fornece um valor aproximado do conteúdo proteico. É importante reconhecer que este procedimento mede

azoto, e que como tal não distingue proteína de reduzida e elevada qualidade, ou azoto proteico ou não proteico. Esta não é “verdadeira” proteína na medida em que este método determina o azoto proveniente também de fontes não proteicas, como aminoácidos livres, aminas e ácidos nucleicos, daí esta fração ser apelidada de “proteína bruta” (MacDonald *et al.*, 2010, Cheeke, 2007).

Cork (1986) refere uma concentração mínima de azoto de 1% para a manutenção das necessidades nutricionais dos koalas. O valor mais reduzido encontrado nas amostras de folhagem analisadas no âmbito deste estudo foi de 1,23% de azoto (amostra de *E. punctata*, proveniente do Escaroupim, do mês de Setembro de 2013), pelo que, segundo o autor citado, a folhagem fornecida aos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa possui níveis adequados de azoto. Ullrey *et al.*, (1981) e Zoidis & Markowitz (1992) analisaram as espécies de eucalipto *E. globulus*, *E. camaldulensis*, *E. robusta*, *E. sideroxylon* e *E. viminalis* e encontraram valores muito semelhantes aos encontrados neste estudo para os valores de proteína bruta, com a exceção de *E. viminalis*, em que os autores Zoidis & Markowitz (1992) encontraram um valor superior (25,9%, que contrasta com o valor médio de 14,7% encontrado neste trabalho). Esta discrepância pode ser devida a diferenças, devidas a alterações sazonais, no estado da planta e / ou nas condições ambientais em que a mesma cresce. Assim, considera-se que a folhagem de eucalipto fornecida aos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa possui níveis de proteína bruta semelhantes aos da folhagem de eucalipto usada noutros locais para a alimentação de koalas. Zoidis & Markowitz (1992) referem a preferência dos koalas para folhagem com um elevado teor de proteína. Contudo, neste estudo não foi encontrada uma relação entre o nível de preferências para cinco espécies (*E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. punctata*, *E. robusta* e *E. viminalis*) e o seu conteúdo proteico.

É possível que os koalas selecionem a folhagem com base na sua composição de aminoácidos e não no teor proteico (Zoidis & Markowitz, 1992). O porco, por exemplo, perante dietas deficientes em aminoácidos essenciais e dietas com teores equilibrados dos mesmos, é capaz de selecionar preferencialmente as últimas. Os níveis plasmáticos de determinados aminoácidos (por exemplo, lisina e triptofano) fornecem sinais para a libertação de neurotransmissores, como a serotonina no cérebro, que desempenham um papel na regulação da ingestão de alimento (Cheeke, 2007). Contudo, o nível de energia de uma dieta tem mais impacto na ingestão voluntária diária do que o nível de proteína da dieta (Cheeke, 2005), pelo que se sugere a análise deste parâmetro na folhagem de eucalipto futuramente.

#### 5.3.4. Análise da fibra (NDF, ADF e ADL)

O sistema da análise usando detergentes permite separar os componentes da fração de hidratos de carbono na verdadeira fração fibrosa e nos componentes não fibrosos. Van Soest (1994) desenvolveu um método que consiste na fervura de uma amostra numa solução detergente, a pH neutro, que solubiliza proteínas, minerais, amido e pectinas (conteúdos celulares). O resíduo insolúvel é apelidado de NDF (sigla provém dos termos em inglês *neutral detergent fibre*). Este resíduo é novamente fervido numa solução detergente ácida. Além de solubilizar os conteúdos celulares, esta solução também dissolve a hemicelulose. O resíduo é apelidado de ADF (dos termos em inglês *acid detergent fibre*). A fração ADF consiste nos componentes celulose, lenhina, sílica, e cutina, o material ceráceo presente na superfície nas folhas. A fração ADF pode ser colocada em contacto com uma solução concentrada de  $H_2SO_4$  (72%), que dissolve a celulose, permanecendo um resíduo (ADL) de lenhina, sílica e cutina. O conteúdo em sílica pode ser calculado através da transformação em cinza da amostra ADL (o resíduo é sílica).

Os valores encontrados para os parâmetros NDF, ADF e ADL para as espécies *E. globulus*, *E. viminalis*, *E. robusta*, *E. camaldulensis* e *E. sideroxylon* estão de acordo com aqueles descritos por Ullrey *et al.*, (1981) e Zoidis e Markowitz (1992), à exceção da fração ADF de *E. globulus*, que está de acordo com o valor referido pelos primeiros autores mas não com o valor referido pelos segundos. Zoidis e Markowitz referem um valor de ADF de *E. globulus* de  $30,5\% \pm 0,2$ , que contrasta com o valor encontrado neste trabalho, ou seja,  $19,8\% \pm 3,2$ . Esta diferença pode ser devida à altura do ano em que se fez a colheita das amostras. Para as restantes espécies de eucalipto não foram encontrados valores na literatura que permitissem uma comparação.

#### 5.3.5. Variação dos teores nutricionais e qualidade nutricional da folhagem

Relativamente à variação de cada parâmetro nutricional (MS, Cinza, NDF, ADF, ADL, ADL, PB), verificou-se que cada espécie possuiu um comportamento diferente. Por exemplo, relativamente à proteína bruta, *E. viminalis* apresentou uma tendência crescente, durante o período compreendido entre Setembro de 2012 e Janeiro de 2013, ao contrário de *E. robusta*, cuja variação não aponta para a existência de uma tendência crescente ou decrescente (valores elevados alternam com valores mais reduzidos). Estes diferentes comportamentos podem estar relacionados com as características intrínsecas das espécies de eucalipto.

À exceção das correlações encontradas entre os valores de NDF, ADF e ADL, que eram esperadas devido ao facto de estas análises serem sequenciais, não foram encontradas correlações significativas entre nenhum dos parâmetros analisados (MS, cinza, NDF, ADF, ADL e PB). Esperava-se que o teor de proteína estivesse negativamente correlacionado com o teor de fibra. É possível que isto não se tenha verificado devido à heterogeneidade das amostras, que não possuíam igual proporção de rebentos e folhas maduras.

O objetivo desta análise foi avaliar a qualidade nutricional do eucalipto fornecido aos koalas e fornecer informação aos veterinários e tratadores que assistem os koalas do Jardim Zoológico de Lisboa. Em determinadas situações poderá ser importante poder aceder a esta informação, como é o caso de situações de doença ou de uma fase de desenvolvimento de um koala, escolhendo-se a espécie mais adequada.

Contudo, para esta informação ser mais completa, seria importante ainda analisar o conteúdo em energia das folhas e ainda o teor de compostos tóxicos. O teor de CFF é o principal determinante da ingestão de espécies de eucalipto (Moore *et al.*, 2004a). Sugere-se a determinação destes parâmetros como atividades a realizar futuramente para o aprofundamento desta questão. Cork (1992) propôs um rácio para avaliar a qualidade nutricional da folhagem: o cálculo do rácio entre a concentração de azoto e a concentração de compostos fenólicos totais, pois a qualidade da dieta depende do equilíbrio entre os nutrientes e os custos associados à metabolização dos compostos secundários (Moore & Foley 2000). Apesar de, neste caso, não se possuir todas as informações necessárias para a realização deste rácio, proporcionam-se neste estudo outras informações, relativas à preferência entre espécies, que poderão ser cruzadas com as informações advindas da análise nutricional e, assim, escolher a espécie que melhor se adequa a cada caso. O leque de espécies a que os koalas têm acesso é grande, o que é uma vantagem, porque permite-lhes exercer um elevado nível de seletividade.

#### **5.3.6. Conclusão e trabalhos futuros no âmbito da composição nutricional do eucalipto**

As amostras de folhagem de eucalipto relativas ao período compreendido entre Setembro de 2012 e Janeiro de 2013 apresentaram, genericamente, valores de humidade, cinza e proteína condizentes com aqueles referidos na literatura. A análise de 54 amostras, de 21 espécies de eucalipto, pode constituir uma fonte de informação para os médicos veterinários e para os tratadores do Jardim Zoológico de Lisboa, caso seja necessário adaptar a dieta dos koalas a uma situação fisiológica particular.

Sugere-se, no futuro, a determinação dos teores de energia e determinação da concentração total de compostos CFF da folhagem.





# Conclusão

## **e trabalhos futuros**

---

Neste estudo, foram encontradas diferenças significativas entre os níveis de preferência dos indivíduos para as espécies de eucalipto. Estas divergências nas preferências podem ser devidas a diferentes características a nível fisiológico (idade, sexo, estado reprodutivo) dos indivíduos e depender da experiência alimentar de cada um.

Apesar das diferenças individuais, determinou-se que existem algumas espécies de eucalipto mais “populares” entre os koalas do Jardim Zoológico de Lisboa, nomeadamente *E. botryoides*, *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. macarthurii*, *E. occidentalis*, *E. ovata*, *E. polyanthemus*, *E. robusta* e *E. tereticornis*. Verificou-se ainda que os níveis de preferência se alteram ao longo do ano, existindo uma variação mais marcada para *E. saligna* e *E. punctata*. As espécies *E. camaldulensis*, *E. botryoides* e *E. globulus* são as espécies que mantêm níveis de preferência mais elevados ao longo do ano. Esta informação poderá permitir uma alimentação diferenciada ao longo do ano, permitindo a otimização da gestão dos arboretos que fornecem alimento aos koalas.

Os animais estudados apresentaram, em média, um nível de preferência superior para todas as espécies provenientes da Mata do Escaroupim, à exceção de *E. maculata*, *E. occidentalis*, *E. perriniana* e *E. rudis*, nas quais o nível de preferência aumenta quando os molhos de eucalipto são originários do ISA. Estas diferenças nos níveis médios de preferências podem estar relacionadas com vários fatores, entre os quais se destacam as diferentes idades das árvores presentes num e noutro local, a possível existência de diferenças a nível genético das plantas, e o facto de o grupo de espécies de eucalipto presente nos dois locais não ser o mesmo. Observou-se ainda que os koalas se mostraram menos seletivos quando existe uma maior competição pelo alimento.

Quanto aos comportamentos observados na observação do comportamento alimentar, verificou-se que existe uma tendência para a ocorrência de um maior consumo das espécies das quais os koalas se aproximaram e ingeriram folhagem inicialmente. Observou-se ainda que os indivíduos aparentaram avaliar cada molho em particular, o que está de acordo com o referido na literatura acerca da variabilidade na composição química existente em cada árvore.

Após a análise nutricional do alimento fornecido aos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa, verificou-se que, para as espécies sobre as quais foi encontrada informação acerca do conteúdo nutricional da folhagem, os teores de humidade, fibra, proteína e cinza se encontraram dentro dos parâmetros referidos na literatura. Verificou-se ainda que existiu uma variação nestes parâmetros, de maior ou menor intensidade, no período de Setembro de 2012 a Janeiro de 2013. Para uma melhor avaliação da qualidade nutricional da folhagem, sugere-se a análise do teor de compostos CFF e, tal como se realizou neste estudo, avaliar se existe variação das concentrações das referidas substâncias ao longo de um determinado período. Apesar disso, o facto de os koalas terem à disposição uma grande

variedade de espécies (cerca de 30), é certamente benéfico na medida em que lhes permite exercer um alto nível de seletividade. Os koalas do Jardim Zoológico de Lisboa desenvolveram-se saudavelmente e reproduziram-se, o que empiricamente demonstra que a qualidade do alimento que lhes é fornecida é elevada.

A principal inovação deste trabalho prende-se com o facto de se ter comprovado, com uma elevada significância estatística, a existência de diferenças ao nível das preferências alimentares individuais. Os restantes resultados encontrados estão de acordo com as descobertas mais recentes, que apontam para a complexidade das interações entre a ingestão, a palatabilidade e a composição da folhagem.

Como trabalhos a realizar no futuro, sugere-se, entre outros, a realização da análise comportamental durante um período mais alargado, de modo a caracterizar devidamente os comportamentos alimentares observados. Propõe-se a recolha de amostras relativas ao período compreendido entre Fevereiro e Agosto e a determinação dos parâmetros nutricionais MS, Cinza, NDF, ADF e ADL, para completar a informação disponibilizada neste trabalho e verificar se, ao invés do período analisado, a variação dos parâmetros se comporta segundo uma tendência crescente ou decrescente. Além da determinação dos parâmetros referidos, sugere-se a determinação dos teores de energia da folhagem e determinação da concentração total de compostos CFF.

Considera-se que os objetivos delineados foram atingidos e que as questões práticas acerca da alimentação dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa inicialmente colocadas foram respondidas. Espera-se que este trabalho contribua para o enriquecimento do estudo da temática abordada e que possa servir de ferramenta para futuros trabalhos a realizar.

## Bibliografia

- Andrew, R. L., Wallis, I. R., Harwood, C. E., Henson, M., & Foley, W. J. (2007). Heritable variation in the foliar secondary metabolite sideroxylonal in *Eucalyptus* confers cross-resistance to herbivores. *Oecologia*, 153, 891–901.
- A.O.A.C, 1995. AOAC official method 976.06 - Semiautomated method (Technicon). AOAC *Official methods of analysis*, 16<sup>th</sup> edition, vol. I, chap.4, p7.
- Bakkali, F., Awerbeck, S., Awerbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential
- Cheeke, P. R. (2005). *Applied animal nutrition - Feeds and Feeding* (pp. 148–149, 16–20, 273–288, 523–528). Pearson - Prentice Hall.
- Clauss, M. (2003). Tannins in the nutrition of wild animals: a review (2003). *Zoo Animal Nutrition*, pp. 53–89. Filander Verlag, Fürth.
- Clifton, D. (2009). High koala mortality associated with low browse moisture in tropical environments. *Australian Mammalogy*, 32, 157–159.
- Cork, S. J., Hume, I. D., & Dawson, T. J. (1983a). Digestion and metabolism of a natural foliar diet (*Eucalyptus punctata*) by an arboreal marsupial, the koala (*Phascolarctos cinereus*). *Journal of Comparative Physiology*, 153, 181–190.
- Cork, S. J., & Warner, A. C. I. (1983b). The passage of digesta markers through the gut of a folivorous marsupial, the koala *Phascolarctos cinereus*. *Journal of Comparative Physiology*, 152, 43–51.
- Cork, S. J. (1986). Foliage of *Eucalyptus punctata* and the maintenance nitrogen requirements of koalas, *Phascolarctos cinereus*. *Australian Journal of Zoology*, 34, 17–23.
- Cork, S. J. (1996). Optimal digestive strategies for arboreal herbivorous mammals in contrasting forest types: why koalas and colobines are different. *Australian Journal of Ecology*, 21, 10–20.
- DeGabriel, J., Foley, W. J., & Wallis, I. R. (2002). The effect of excesses and deficiencies in amino acids on the feeding behaviour of the common brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *Journal of Comparative Physiology*, 172, 607–617.
- DeGabriel, J. L., Moore, B. D., Foley, W. J., Johnson, C. N. (2009). The effects of plant defensive chemistry on nutrient availability predict reproductive success in a mammal. *Ecology*, 90, 711–719.
- DeGabriel, J. L., Moore, B. D., Shipley, L. S., Krockenberger A. K., Wallis I. R., Johnson C. N., & Foley W. J. (2009) Inter-population differences in the tolerance of a marsupial folivore to plant secondary metabolites. *Oecologia*, 161, 539–54.
- DeGabriel, J. L., Moore, B. D., Marsh, K. J., & Foley, W. J. (2010). The effect of plant secondary metabolites on the interplay between the internal and external environments of marsupial folivores. *Chemoecology*, 20, 97–108.

- Degabriele, R. (1981). A relative shortage of nitrogenous food in the ecology of the koala (*Phascolarctos cinereus*). *Australian Journal of Ecology*, 6, 139–141.
- Degabriele, R. (1983). Nitrogen and the koala (*Phascolarctos cinereus*): some indirect evidence. *Australian Journal of Ecology*, 8, 75–76.
- Eberhard, I. H., Namara J., Pearse, R. J., & Southwell, I. A. (1975). Ingestion and excretion of *Eucalyptus punctata* and its essential oil by the koala, *Phascolarctos cinereus* (Goldfuss). *Australian Journal of Zoology*, 23, 169-79.
- Foley, W. J., & Hume, I. D. (1987). Digestion and metabolism of high-tannin *Eucalyptus* foliage by the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*) (Marsupialia: Phalangeridae). *Journal of Comparative Physiology B*, 157, 67-76.
- Foley, W. J., & Moore, B. D. (2005). Plant secondary metabolites and vertebrate herbivores - from physiological regulation to ecosystem function. *Current opinion in plant biology*, 8, 430–435.
- Goes, E. (s /d.) Os eucaliptos (Ecologia, cultura, produções e rentabilidade Centro de Produção Florestal. Portucel - Empresa de Celulose e Papel de Portugal.
- Gordon, G., Menkhorst, P., Robinson, T., Lunney, D., Martin, R., & Ellis, M. (2008) *IUCN Red List of Threatened Species: Phascolarctos cinereus*. Versão 2013.1. Acedido em Set. 2, 2013, disponível em [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)
- Harropa, C. J. F., & Degabriel, R. (1976). Digestion and Nitrogen Metabolism in the Koala , *Phascolarctos cinereus*. *Australian Journal of Zoology*, 24, 201-15.
- Higgins, A. L., Bercovitch, F. B., Tobey, J. R., & Andrus, C. H. (2011). Dietary specialization and *Eucalyptus* species preferences in Queensland Koalas (*Phascolarctos cinereus*). *Zoo Biology*, 30, 52–58.
- Hindell, M. A., Handasyde, K. A., & Lee, A. K. (1985). Tree species selection by free ranging koalas in Victoria. *Australian Wildlife research*, 12, 137-144.
- Hume, I. D. (1989). Nutrition of marsupial herbivores. *Proceedings of the nutrition society*, 48, 69–79.
- Hume, I. D., & Esson, C. (1993). Nutrients, antinutrients and leaf selection by captive Koalas (*Phascolarctos cinereus*). *Australian Journal of Zoology*, 41, 379–92.
- Hume, I. D. (2005). Nutrition of marsupials in captivity. *Int. Zoo Yearbook*, 39, 117–132
- Kantavilas, G. (1996). The discovery of Tasmanian eucalypts: an historical sketch. *Tasforests*, 8, 1-14.
- Külheim, C., Yeoh, S. H., Wallis, I. R., Laffan, S., Moran, G. F., & Foley, W. J. (2011). The molecular basis of quantitative variation in foliar secondary metabolites in *Eucalyptus globulus*. *The New phytologist*, 191, 1041–53.
- Krockenberger, A. K., & Hume, I. D. (2007). A flexible digestive strategy accommodates the nutritional demands of reproduction in a free-living folivore, the Koala (*Phascolarctos cinereus*). *Functional Ecology*, 21 , 748–756.

- Lanyon, J. M., & Sanson, G. D. (1986). Koala (*Phascolarctos cinereus*) dentition and nutrition II. Implications of tooth wear in nutrition. *Journal of Zoology*, 209, 169–181.
- Lawler, Ivan R, Foley, W. J., Eschler, B. M., Pass, D. M., & Handasyde, K. (1998a). Intraspecific variation in *Eucalyptus* secondary metabolites determines food intake by folivorous marsupials. *Oecologia*, 160–169.
- Lawler, I R, Foley, W. J., Pass, G. J., & Eschler, B. M. (1998b). Administration of a 5HT 3 receptor antagonist increases the intake of diets containing *Eucalyptus* secondary metabolites by marsupials. *Journal of Comparative Physiology*, 168, 611–618.
- Lawler, I. R., Stapley, J., Foley, W. J. & Eschler, B. M. (1999). Ecological example of conditioned flavor aversion in plant–herbivore interactions: effect of terpenes of *Eucalyptus* leaves on feeding by common ringtail and brushtail possums. *Journal of Chemical Ecology*, 25, 401–415.
- Lawler, Ivan R, Foley, W. J., & Eschler, B. M. (2000). Foliar concentrations of a single toxin creates *habitat* patchiness for a marsupial folivore. *Ecology*, 81, 1327–1338.
- Lee, A.K. & Carrick, F.N. (1989). Fauna of Australia Volume 1B: Phascolarctidae. AGPS Canberra. Acedido em Mar 10, 2013, from Australian Government - Department of Environment website:  
<http://www.environment.gov.au/biodiversity/abrs/publications/fauna-of-australia/pubs/volume1b/31-ind.pdf>
- Logan, M. (2001). Evidence for the occurrence of rumination-like behaviour , or merycism, in the koala (*Phascolarctos cinereus*, Goldfuss). *Journal of Zoology*, 255, 83–87.
- Loney, P. E., Mcarthur, C., Sanson, G. D., Davies, N. W., Close, D. C. & Jordan, G. J. (2006). How do soil nutrients affect within-plant patterns of herbivory in seedlings of *Eucalyptus nitens*? *Oecologia*, 150, 409–420.
- Martin, R. W. & Handasyde, K. A (1999). *The koala: Natural history, conservation and management* (2nd ed.). Sidney: University of New South Wales Press Ltd.
- Marsh, K. J., Wallis, I. R., & Foley, W. J. (2003). The effect of inactivating tannins on the intake of *Eucalyptus* foliage by a specialist *Eucalyptus* folivore (*Pseudocheirus peregrinus* ) and a generalist herbivore (*Trichosurus vulpecula* ). *Australian Journal of Zoology*, 51, 31–42.
- Marsh, K. J., Wallis, I. R. & Foley, W. J. (2007). Behavioural contributions to the regulated intake of plant secondary metabolites in koalas. *Oecologia*, 154, 283–290.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A. & Wikinson, R. G. (2010). *Animal nutrition* (7th ed.). Pearson Education Lda.
- Melzer, A., Carrick, F., Menkhorst, P., Lunney, D., & John, B. S. T. (2000). Overview , critical assessment , and conservation implications of koala distribution and abundance. *Conservation Biology*, 14, 619–628.
- Millner, J. P., & Kemp, P. D. (2011). Foliar nutrients in *Eucalyptus* species in New Zealand. *New Forests*, 43, 255–266.

- Moore, B. D. & Foley, W. J. (2000). A review of feeding and diet selection in koalas (*Phascolarctos cinereus*). *Australian Journal of Zoology*, 48, 317–333.
- Moore, B. D., Wallis, I. R., Marsh, K. J., & Foley, W. J. (2004a). The role of nutrition in the conservation of the marsupial folivores of eucalypt forests. *Conservation of Australia's Forest Fauna*, 549–575.
- Moore, B. D., Wallis, I. R., Palá-Paul, J., Brophy, J. J., Willis, R. H., & Foley, W. J. (2004b). Antiherbivore chemistry of *Eucalyptus* - cues and deterrents for marsupial folivores. *Journal of chemical ecology*, 30, 1743–69.
- Moore, B. D. & Foley, W. J. (2005). Tree use by koalas in a chemically complex. *Nature*, 435, 488-90.
- Moore, B. D., Foley, W. J., Wallis, I. R., Cowling, A., & Handasyde, K. A. (2005). *Eucalyptus* foliar chemistry explains selective feeding by koalas. *Biology Letters*, 1, 64–67.
- Moore, B. D.. Why did the koala cross the florest floor? (2006). *Australisian Science*. March, 23-25.
- Moore, B. D., Lawler, I. R., Beale, C. M., & Foley, W. J. (2010). Palatability mapping: a koala's eye view of spatial variation in *habitat* quality. *Ecology*, 91, 3165–3176.
- O'Reilly-Wapstra, J. M., Mearns, C., Potts, & B. M. (2002). Genetic variation in resistance of *Eucalyptus globulus* to marsupial browsers. *Oecologia*, 130, 289–296.
- Osawa, R., Walsh, T. P., & Cork, S. J. (1993). Metabolism of tannin-protein complex by facultatively anaerobic bacteria isolated from koala feces. *Biodegradation*, 4, 91–99.
- Pass, D. M., Foley, W. J., & Bowden, B. (1998). Vertebrate herbivory on *Eucalyptus* - identification of specific feeding deterrents for common ringtail possums (*Pseudocheirus peregrinus*) by bioassay-guided fractionation of *Eucalyptus ovata* foliage. *Journal of Chemical Ecology*, 24, 1513–27.
- Seabra, L., Ferreirinha, M. (1960). Contribution a l'étude technologique des Eucalyptus cultivés au Portugal. *Estud. Inform. Serv. Flor. Aquic. Portugal*, 136, 1-33.
- Sharp, A. (1995). *The koala book*. New Zealand: David Bateman Ltd.
- Snipes, R. L., Snipes, H & Carrick, F. N. (1993). Surface Enlargement in the Large Intestine of the Koala (*Phascolarctos cinereus*): Morphometric Parameters. *Australian Journal of Zoology*, 41, 393-7.
- Ullrey, D. E., Robinson, P. T., & Whetter, P. A. (1981a). Composition of preferred and rejected Eucalyptus browse offered to captive koalas, *Phascolarctos cinereus* (Marsupialia). *Australian Journal of Zoology*, 29, 839–46.
- Ullrey, D. E., Robinson, P. T. & Whetter, P. A. (1981b). *Eucalyptus* digestibility and digestible energy requirements of adult male koalas, *Phascolarctos cinereus* (Marsupialia). *Australian Journal of Zoology*, 29, 847-52
- Van Soest, P.J.(1963). Use of detergentes in the analysis of fibrous feed. 2) A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J. Ass. Agric. Chem.*, 46, 829-835.



- Van Soest, P.J. & Wine, R.H. (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. 4) Determination of plant cell-wall constituent. *J. Ass. Agric. Chem.*, 50, 50-55.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74, 3583-3597.
- Wallis, I. R., Nicolle, D., & Foley, W. J. (2010). Available and not total nitrogen in leaves explains key chemical differences between the eucalypt subgenera. *Forest Ecology and Management*, 260, 814–821.
- Wiggins, N. L., Marsh, K. J., Wallis, I. R., Foley, W. J., & McArthur, C (2006). Sideroxylonal in Eucalyptus foliage influences foraging behaviour of an arboreal folivore. *Oecologia*, 147, 272–9.
- Zoidis, A. M., & Markowitz, H. (1992). Findings from a feeding study of the at the San Francisco Zoo. *Zoo Biology*, 11, 417–431.

# Anexos

---

# **ANEXO I - ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS PREFERÊNCIAS ALIMENTARES NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE 2008 E 2012**

**Tabela I.** Valores das médias ponderadas e dos respetivos erros-padrão do nível de preferências de cada indivíduo (Bamba, Kiwa, Moonan) ou grupo (Fêmeas, Fêmeas + Kiwa), para as espécies de eucalipto provenientes da Mata do Escaroupim. Dados relativos ao período compreendido entre 2008 e 2012.

Espécies	Bamba		Kiwa		Moonan		Fêmeas		Fêm.+ Kiwa	
	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão
<i>E. botryoides</i>	3,626	0,068	3,589	0,073	3,493	0,041	3,78	0,034	3,884	0,106
<i>E. camaldulensis</i>	3,693	0,046	3,712	0,039	3,562	0,026	3,812	0,024	3,869	0,072
<i>E. cinerea</i>	2,782	0,167	2,975	0,142	2,879	0,093	3,257	0,077	3,317	0,245
<i>E. citriodora</i>	3,704	0,322	3,135	0,251	3,041	0,222	3,204	0,191	3,667	0,555
<i>E. crebra</i>	-	-	2,972	0,242	3,333	0,209	3,8	0,186	-	-
<i>E. dalrympleana</i>	3,278	0,236	3,422	0,205	3,32	0,166	3,32	0,147	1,5	0,641
<i>E. delegatensis</i>	4	0,479	3,708	0,197	3,944	0,204	2,375	0,293	4	0,677
<i>E. globulus</i>	3,805	0,058	3,855	0,072	3,696	0,039	3,84	0,029	3,955	0,091
<i>E. gonicalyx</i>	3,667	0,476	2,5	0,693	3,023	0,220	3,222	0,209	2,25	0,600
<i>E. grandis</i>	3,111	0,118	2,683	0,119	2,882	0,074	3,313	0,061	3,604	0,193
<i>E. gunni</i>	3,063	0,247	2,5	0,252	3,713	0,158	3,094	0,138	4	0,322
<i>E. leucoxylon</i>	3,251	0,206	3,397	0,152	3,107	0,126	3,593	0,105	3,583	0,257
<i>E. macarthuri</i>	3,507	0,064	3,796	0,051	3,701	0,038	3,946	0,031	3,933	0,119
<i>E. maculata</i>	1,503	0,236	1,255	0,247	1,67	0,169	1,565	0,167	2,433	0,333
<i>E. melliodora</i>	2,913	0,256	3,278	0,328	3,056	0,162	3,542	0,136	3,333	0,508
<i>E. microcorys</i>	-	-	-	-	1	0,289	1,6	0,163	2,5	0,289
<i>E. nitens</i>	3,026	0,171	2,729	0,160	3,008	0,100	3,308	0,085	3,788	0,247
<i>E. obliqua</i>	3,367	0,257	3,704	0,339	2,702	0,192	3,494	0,170	3,139	0,443
<i>E. occidentalis</i>	3,538	0,129	3,599	0,101	3,227	0,074	3,676	0,059	3,983	0,183
<i>E. ovata</i>	3,203	0,146	3,478	0,131	3,257	0,082	3,602	0,069	3,639	0,187
<i>E. pauciflora</i>	3,729	0,354	2,658	0,212	2,722	0,171	2,93	0,177	4	1,142
<i>E. perriana</i>	4	0,901	2	0,581	1,786	0,515	3,143	0,355	4	1,560
<i>E. polyanthemus</i>	3,583	0,170	3,354	0,119	3,467	0,081	3,672	0,067	3,9	0,239
<i>E. propinqua</i>	3,028	0,358	2,523	0,261	2,88	0,270	2,946	0,208	4	1,239
<i>E. punctata</i>	2,897	0,177	2,982	0,159	2,657	0,083	3,261	0,081	3,231	0,221
<i>E. regnans</i>	-	-	-	-	3,63	0,230	3,023	0,208	3,5	0,576
<i>E. resinifera</i>	2,995	0,237	2,431	0,214	2,797	0,145	3,427	0,141	3,4	0,299

**Tabela I.** Valores das médias ponderadas e dos respectivos erros-padrão do nível de preferências de cada indivíduo (Bamba, Kiwa, Moonan) ou grupo (Fêmeas, Fêmeas + Kiwa), para as espécies de eucalipto provenientes da Mata do Escaroupim. Dados relativos ao período compreendido entre 2008 e 2012 (Continuação).

Espécies	Bamba		Kiwa		Moonan		Fêmeas		Fêm.+ Kiwa	
	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão
<i>E. robusta</i>	3,437	0,068	3,411	0,058	3,156	0,041	3,698	0,039	3,665	0,117
<i>E. rubida</i>	3,889	0,312	3,417	0,215	2,851	0,166	3,015	0,193	3	0,866
<i>E. rudis</i>	3,619	0,146	3,576	0,107	3,456	0,094	3,729	0,077	3,18	0,307
<i>E. saligna</i>	3,073	0,11	2,591	0,123	2,606	0,075	3,189	0,082	3,598	0,169
<i>E. sideroxylon</i>	3,517	0,356	3,594	0,26	2,956	0,206	3,223	0,194	3	0,692
<i>E. tereticornis</i>	3,635	0,121	3,828	0,092	3,365	0,072	3,652	0,066	3,875	0,172
<i>E. viminalis</i>	3,131	0,111	3,355	0,099	2,866	0,064	3,533	0,054	3,873	0,148

**Tabela II.** Valores das médias ponderadas e dos respetivos erros-padrão do nível de preferências de cada indivíduo (Kiwa, Moonan) ou grupo (Fêmeas), para as espécies de eucalipto provenientes do Instituto Superior de Agronomia. Dados relativos ao período compreendido entre Novembro de 2011 e Dezembro de 2012.

Espécies	Kiwa		Moonan		Fêmeas	
	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão
<i>E. botryoides</i>	1,929	0,229	2,090	,247	2,942	0,215
<i>E. camaldulensis</i>	3,286	0,239	3,200	0,306	3,454	0,181
<i>E. cinerea</i>	2,267	0,385	2,750	0,311	3,000	0,314
<i>E. citriodora</i>	1,952	0,308	1,417	0,387	2,405	0,258
<i>E. crebra</i>	3,742	0,168	3,722	0,187	3,622	0,132
<i>E. dalrympleana</i>	1,000	0,250	4,000	0,408	1,750	0,204
<i>E. delegatensis</i>	4,000	0,211	4,000	0,365	3,900	0,200
<i>E. globulus</i>	3,417	0,157	3,214	0,165	3,850	0,120
<i>E. goniocalyx</i>	3,500	0,293	3,600	0,277	3,000	0,241
<i>E. grandis</i>	1,625	0,370	1,976	0,392	2,463	0,383
<i>E. gunni</i>	3,000	0,430	2,833	0,436	2,583	0,427
<i>E. leucoxydon</i>	4,000	1,155	3,667	0,667	3,000	1,155
<i>E. macarthuri</i>	1,000	-	0,000	-	3,000	-
<i>E. maculata</i>	1,364	0,266	2,571	0,341	2,991	0,257
<i>E. melliodora</i>	3,750	0,515	2,250	0,571	3,333	0,481
<i>E. nitens</i>	2,167	0,188	3,550	0,236	2,467	0,211
<i>E. obliqua</i>	-	-	0,333	0,306	2,767	0,230
<i>E. occidentalis</i>	3,167	0,075	3,750	0,065	3,778	0,060
<i>E. ovata</i>	2,625	0,280	4,000	0,395	3,333	0,264
<i>E. pauciflora</i>	4,000	0,000	-	-	3,500	0,000
<i>E. perriana</i>	2,521	0,328	3,000	0,297	3,229	0,286
<i>E. polyanthemus</i>	2,214	0,484	2,250	0,557	3,438	0,437
<i>E. propinqua</i>	3,389	0,318	2,741	0,272	2,949	0,302
<i>E. punctata</i>	1,167	0,776	3,667	0,850	1,500	0,850
<i>E. resinifera</i>	2,938	0,399	2,390	0,414	2,135	0,378
<i>E. robusta</i>	2,500	0,404	3,067	0,374	2,533	0,477
<i>E. rubida</i>	2,667	0,248	3,333	0,240	4,000	0,248
<i>E. rudis</i>	3,788	0,093	3,681	0,103	3,704	0,091
<i>E. saligna</i>	1,013	0,238	0,500	0,246	1,454	0,193
<i>E. sideroxylon</i>	1,833	0,882	3,167	0,882	1,000	1,528
<i>E. tereticornis</i>	4,000	-	2,000	-	4,000	-
<i>E. viminalis</i>	3,281	0,233	2,500	0,333	2,900	0,257

**Tabela III.** Número de dados disponíveis sobre o nível de preferência para cada espécie de eucalipto, provenientes da Mata do Escaroupim e do Instituto Superior de Agronomia (ISA), relativos ao período compreendido entre 2008 e 2012.

Espécie de eucalipto	Mata do Escaroupim	ISA
<i>E. botryoides</i>	2009	131
<i>E. camaldulensis</i>	2734	34
<i>E. cinerea</i>	814	33
<i>E. citriodora</i>	164	50
<i>E. crebra</i>	35	70
<i>E. dalrympleana</i>	137	8
<i>E. delegatensis</i>	44	10
<i>E. globulus</i>	1588	43
<i>E. goniocalyx</i>	79	27
<i>E. grandis</i>	900	46
<i>E. gunni</i>	128	37
<i>E. leucoxylon</i>	319	6
<i>E. macarthuri</i>	911	4
<i>E. maculata</i>	294	51
<i>E. melliodora</i>	193	22
<i>E. microcorys</i>	11	0
<i>E. nitens</i>	645	40
<i>E. obliqua</i>	135	11
<i>E. occidentalis</i>	909	43
<i>E. ovata</i>	617	15
<i>E. pauciflora</i>	183	5
<i>E. perriana</i>	46	32
<i>E. polyanthemus</i>	401	33
<i>E. propinqua</i>	125	53
<i>E. punctata</i>	1002	11
<i>E. regnans</i>	0	43
<i>E. resinifera</i>	314	49
<i>E. robusta</i>	2389	36
<i>E. rubida</i>	101	18
<i>E. rudis</i>	577	106
<i>E. saligna</i>	1298	88
<i>E. sideroxylon</i>	153	9
<i>E. tereticornis</i>	747	4
<i>E. viminalis</i>	1323	35

## ANEXO II - TESTES DE CAFETARIA

**Tabela IV.** Molhos de eucalipto fornecidos às três fêmeas (Bunyarra, Kommela e Orana) no decorrer dos testes de cafetaria. Quantidade aproximada ingerida (em gramas) durante 24 horas e classificação do consumo pelos tratadores (escala de 0 a 4). Os molhos de eucalipto da mesma espécie foram classificados com (1) e (2), para se diferenciarem.

Data	Espécie	Consumo (g)	Clas. dos tratadores
12 Mar	<i>E. propinqua</i> (1)	560	4
	<i>E. resinifera</i> (1)	10	0
	<i>E. grandis</i>	330	4
	<i>E. saligna</i>	100	1
	<i>E. propinqua</i> (2)	50	4
	<i>E. resinifera</i> (2)	220	3
13 Mar	<i>E. grandis</i> (1)	170	4
	<i>E. saligna</i> (1)	210	4
	<i>E. propinqua</i>	570	4
	<i>E. resinifera</i>	90	1
	<i>E. grandis</i> (2)	350	4
	<i>E. saligna</i> (2)	60	4
14 Mar	<i>E. sideroxylon</i> (1)	190	4
	<i>E. viminalis</i>	220	4
	<i>E. botryoides</i>	300	2
	<i>E. globulus</i>	610	4
	<i>E. sideroxylon</i> (2)	200	4
	<i>E. viminalis</i> (2)	210	4
15 Mar	<i>E. viminalis</i> (1)	120	4
	<i>E. botryoides</i> (1)	190	4
	<i>E. sideroxylon</i>	310	4
	<i>E. viminalis</i> (2)	170	4
	<i>E. globulus</i>	440	4
	<i>E. botryoides</i> (2)	300	4
18 Mar	<i>E. rudis</i> (1)	280	4
	<i>E. cinerea</i>	260	4
	<i>E. maculata</i> (1)	230	3
	<i>E. cypellocarpa</i>	100	2
	<i>E. rudis</i> (2)	180	4
	<i>E. maculata</i> (2)	60	0

**Tabela V.** Molhos de eucalipto fornecidos ao koala do sexo masculino Pintupi no decorrer dos testes de cafeteria. Quantidade aproximada ingerida (em gramas) durante 24 horas e classificação do consumo pelos tratadores (escala de 0 a 4).

Data	Espécie	Consumo (g)	Clas. dos tratadores
12 Mar	<i>E. propinqua</i>	160	1
	<i>E. resinifera</i>	120	3
	<i>E. grandis</i>	280	3
	<i>E. saligna</i>	100	4
13 Mar	<i>E. grandis</i>	280	3
	<i>E. saligna</i>	210	4
	<i>E. propinqua</i>	100	1
	<i>E. resinifera</i>	140	3
14 Mar	<i>E. sideroxylon</i>	190	4
	<i>E. viminalis</i>	140	4
	<i>E. botryoides</i>	190	4
	<i>E. globulus</i>	460	4
15 Mar	<i>E. globulus</i>	120	4
	<i>E. sideroxylon</i>	220	4
	<i>E. viminalis</i>	330	4
	<i>E. botryoides</i>	230	4
18 Mar	<i>E. cinerea</i>	280	4
	<i>E. rudis</i>	330	4
	<i>E. cypellocarpa</i>	80	4
	<i>E. maculata</i>	150	4
18 Jun	<i>E. propinqua</i>	300	4
	<i>E. resinifera</i>	320	4
	<i>E. grandis</i>	70	1
	<i>E. saligna</i>	60	1
19 Jun	<i>E. grandis</i>	240	4
	<i>E. saligna</i>	50	0
	<i>E. propinqua</i>	170	4
	<i>E. resinifera</i>	40	1
20 Jun	<i>E. sideroxylon</i>	220	4
	<i>E. viminalis</i>	190	4
	<i>E. botryoides</i>	30	1
	<i>E. globulus</i>	350	4
21 Jun	<i>E. sideroxylon</i>	280	4
	<i>E. viminalis</i>	240	2
	<i>E. botryoides</i>	50	2
	<i>E. globulus</i>	120	1
24 Jun	<i>E. cinerea</i>	200	2
	<i>E. rudis</i>	530	4
	<i>E. cypellocarpa</i>	60	3
	<i>E. maculata</i>	20	0



**Tabela VI.** Molhos de eucalipto fornecidos ao koala do sexo masculino Moonan no decorrer dos testes de cafeteria. Quantidade aproximada ingerida (g) durante 24 horas e classificação do consumo pelos tratadores (escala de 0 a 4).

Data	Espécie	Consumo (g)	Class. dos tratadores
12 Mar	<i>E. propinqua</i>	100	4
	<i>E. resinifera</i>	20	4
	<i>E. grandis</i>	320	3
	<i>E. saligna</i>	10	0
13 Mar	<i>E. grandis</i>	150	3
	<i>E. saligna</i>	60	1
	<i>E. propinqua</i>	130	2
	<i>E. resinifera</i>	200	3
14 Mar	<i>E. sideroxylon</i>	230	4
	<i>E. viminalis</i>	60	3
	<i>E. botryoides</i>	130	2
	<i>E. globulus</i>	280	4
15 Mar	<i>E. sideroxylon</i>	180	4
	<i>E. viminalis</i>	60	1
	<i>E. botryoides</i>	80	1
	<i>E. globulus</i>	360	4
18 Mar	<i>E. cinerea</i>	170	4
	<i>E. rudis</i>	60	3
	<i>E. cypellocarpa</i>	180	1
	<i>E. maculata</i>	210	4
18 Jun	<i>E. propinqua</i>	100	4
	<i>E. resinifera</i>	170	3
	<i>E. grandis</i>	60	2
	<i>E. saligna</i>	40	1
19 Jun	<i>E. grandis</i>	60	1
	<i>E. saligna</i>	40	0
	<i>E. propinqua</i>	210	4
	<i>E. resinifera</i>	150	4
20 Jun	<i>E. sideroxylon</i>	70	4
	<i>E. viminalis</i>	10	0
	<i>E. botryoides</i>	0	0
	<i>E. globulus</i>	250	4
24 Jun	<i>E. cinerea</i>	160	4
	<i>E. rudis</i>	580	4
	<i>E. cypellocarpa</i>	180	4
	<i>E. maculata</i>	320	4

**Tabela VII.** Exemplos de comportamentos (cheirar e ingerir folhagem / cheirar e não ingerir folhagem / ingerir sem cheirar a folhagem previamente) exibidos pelas fêmeas (Bunyarra, Koomeela e Orana) a alguns molhos de eucalipto utilizados nos testes de cafeteria.

Reação aos molhos de eucalipto	Dia	Indivíduo	Espécie de Eucalipto
Ingerir folhagem sem cheirar previamente	12 de Março 12 de Março 14 de Março	Koomeela Orana Koomeela	<i>E.propinqua</i> <i>E.propinqua</i> <i>E.globulus</i>
Cheirar e ingerir folhagem	13 de Março 14 de Março 15 de Março	Bunyarra Koomeela Orana Koomeela Koomeela Orana	<i>E.propinqua</i> <i>E.propinqua</i> <i>E.globulus</i> <i>E.botryoides</i> <i>E.sideroxylon</i> <i>E.sideroxylon</i>
Cheirar e não ingerir folhagem	12 de Março 13 de Março 14 de Março 15 de Março 18 de Março	Bunyarra, Orana Bunyarra Orana Koomeela Bunyarra Orana Bunyarra Koomeela Orana Koomeela	<i>E.resinifera</i> <i>E.saligna</i> <i>E.resinifera</i> <i>E.grandis</i> <i>E.saligna</i> <i>E.saligna</i> <i>E.resinifera</i> <i>E.grandis</i> <i>E.saligna</i> <i>E.botryoides</i> <i>E.viminalis</i> <i>E.viminalis</i> <i>E.sideroxylon</i> <i>E.viminalis</i> <i>E.maculata</i> <i>E.maculata</i> <i>E.rudis</i> <i>E.cypellocarpa</i> <i>E.rudis</i> <i>E.maculata</i>

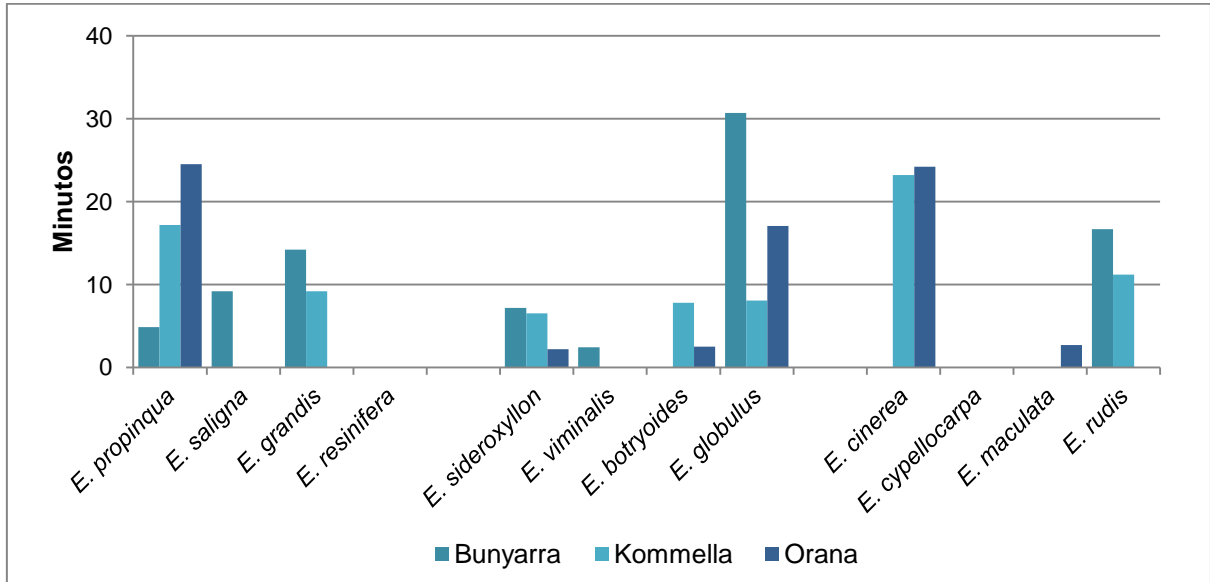
**Tabela VIII.** Exemplos de comportamentos (cheirar e ingerir folhagem / cheirar e não ingerir folhagem / ingerir sem cheirar a folhagem previamente) exibidos pelo koala do sexo masculino Moonan a alguns molhos de eucalipto utilizados nos testes de cafeteria.

Reação aos molhos de eucalipto	Dia	Indivíduo	Espécie de eucalipto
Ingerir folhagem sem cheirar previamente	12 de Março 14 de Março	Moonan	<i>E.grandis</i> <i>E.sideroxylon</i>
Cheirar e ingerir folhagem	12 de Março 13 de Março 14 de Março  15 de Março  18 de Março	Moonan	<i>E.resinifera</i> <i>E.propinqua</i> <i>E.globulus</i> <i>E.viminalis</i> <i>E.botryoides</i> <i>E.sideroxylon</i> <i>E.cypellocarpa</i> <i>E.cinerea</i> <i>E.rudis</i>
Cheirar e não ingerir folhagem	13 de Março  15 de Março 18 de Março	Moonan	<i>E.resinifera</i> <i>E.botryoides</i> <i>E.maculata</i>

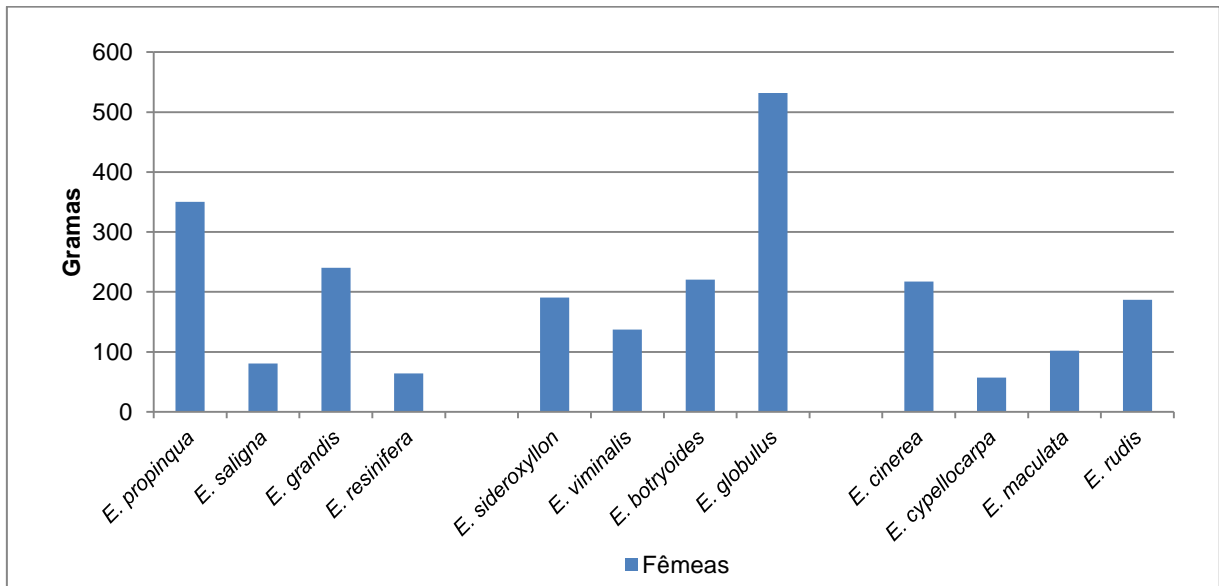
**Tabela XIX.** Exemplos de comportamentos (cheirar e ingerir folhagem / cheirar e não ingerir folhagem / ingerir sem cheirar a folhagem previamente) exibidos pelo koala do sexo masculino Pintupi relativamente a alguns molhos de eucalipto utilizados nos testes de cafetaria.

Reação aos molhos de eucalipto	Dia	Indivíduo	Espécie de eucalipto
<b>Cheirar e ingerir folhagem</b>	12 de Março	Pintupi	<i>E.resinifera</i> <i>E.propinqua</i>
	13 de Março	Pintupi	<i>E.grandis</i>
	14 de Março	Pintupi	<i>E.globulus</i>
	14 de Março	Pintupi	<i>E.viminalis</i>
	14 de Março	Pintupi	<i>E.globulus</i>
	15 de Março	Pintupi	<i>E.viminalis</i>
		Pintupi	<i>E.globulus</i> <i>E.sideroxylon</i>
	18 de Março	Pintupi	<i>E.rudis</i>
	18 de Março	Pintupi	<i>E.cypellocarpa</i>
	18 de Março	Pintupi	<i>E.cinerea</i>
<b>Cheirar e não ingerir folhagem</b>	12 de Março	Pintupi	<i>E.resinifera</i> <i>E.propinqua</i>
	13 de Março	Pintupi	<i>E.saligna</i>
	18 de Março	Pintupi	<i>E.maculata</i>
<b>Ingerir folhagem sem cheirar previamente</b>	14 de Março	Pintupi	<i>E.sideroxylon</i>

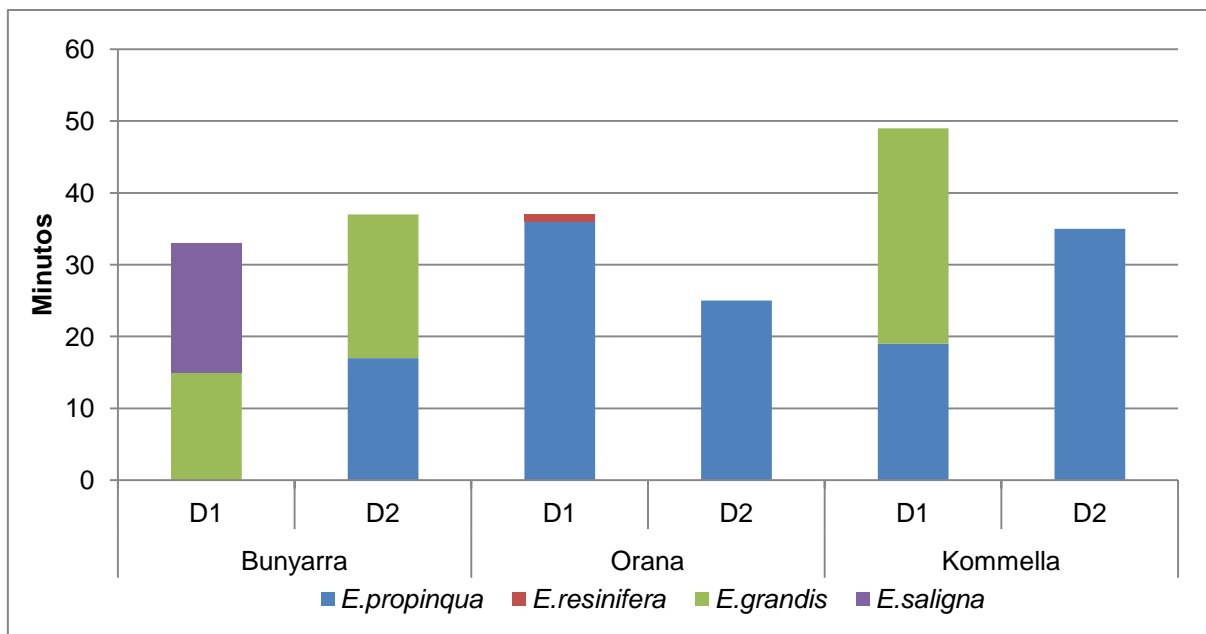
**Gráfico I.** Número médio de minutos despendidos, por cada koala do sexo feminino, na ingestão das várias espécies de eucalipto, durante os primeiros sessenta minutos em que novo alimento esteve disponível para consumo.



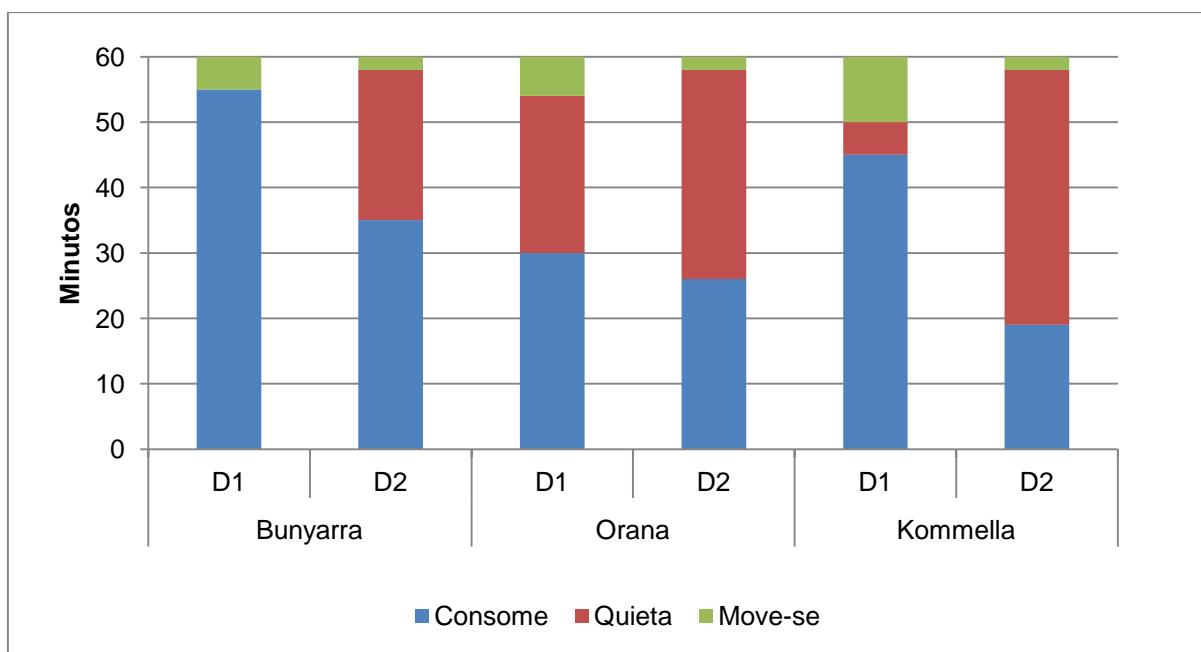
**Gráfico II.** Consumo médio, em gramas, de folhagem, de cada espécie de eucalipto, pelo grupo constituído pelos koalas do sexo feminino.



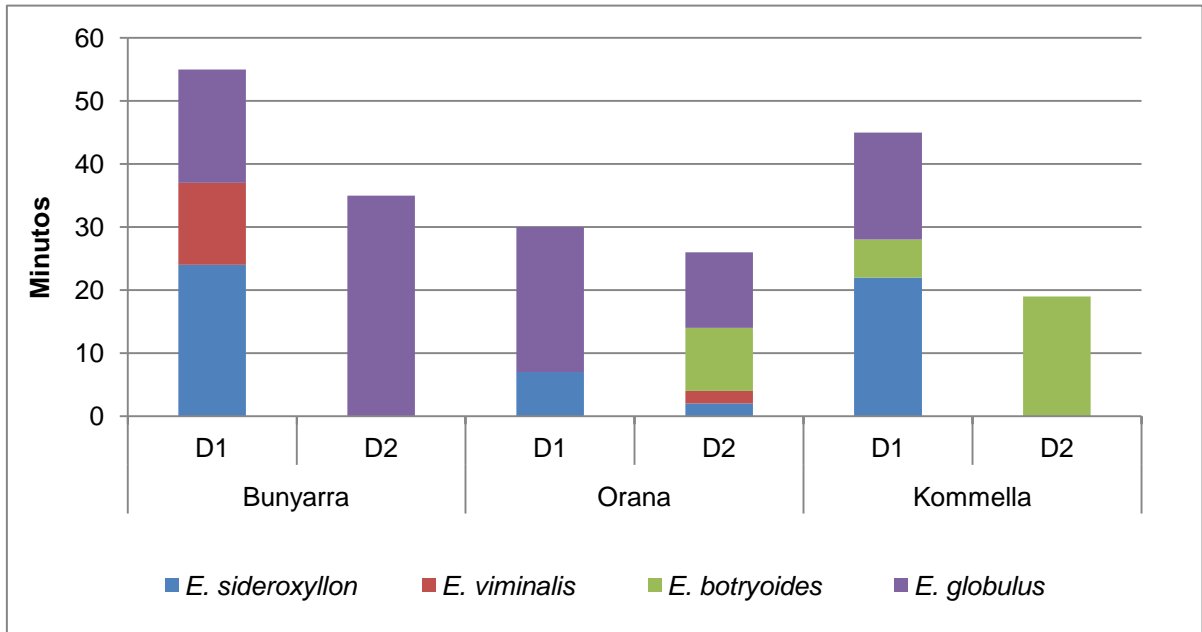
**Gráfico III.** Número médio de minutos despendidos, por cada koala do sexo feminino, na ingestão das espécies de eucalipto *E. propinqua*, *E. resinifera*, *E. grandis* e *E. saligna*, durante os primeiros sessenta minutos em que estiveram disponíveis para consumo.



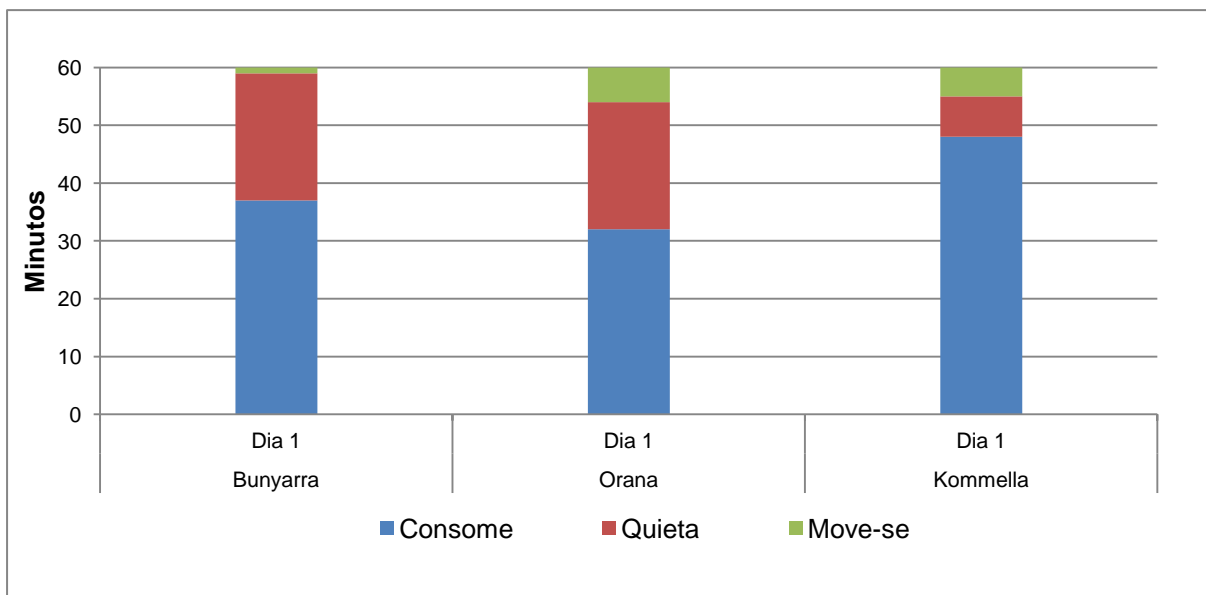
**Gráfico IV.** Comportamento exibidos pelos koalas do sexo feminino, em minutos, durante os primeiros sessenta minutos em que as espécies *E. sideroxylon*, *E. viminalis*, *E. botryoides* e *E. globulus* estiveram disponíveis para consumo. D1= dia 1 do ensaio, D2 = dia 2 do ensaio.



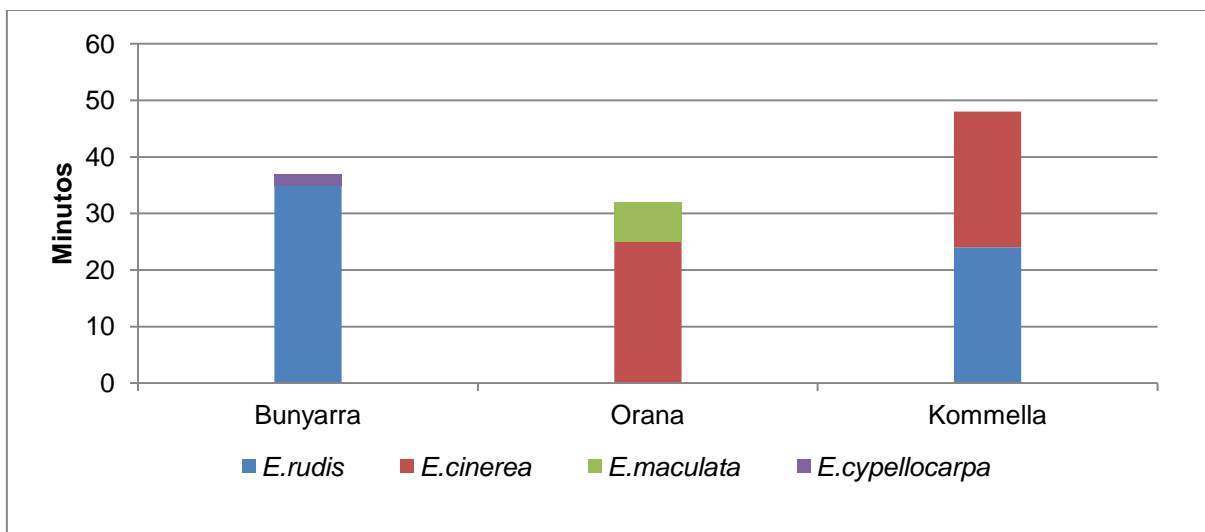
**Gráfico V.** Número médio de minutos despendidos, por cada koala do sexo feminino, na ingestão das espécies de eucalipto *E. sideroxylon*, *E. viminalis*, *E. botryoides* e *E. globulus*, durante os primeiros sessenta minutos em que estiveram disponíveis para consumo.



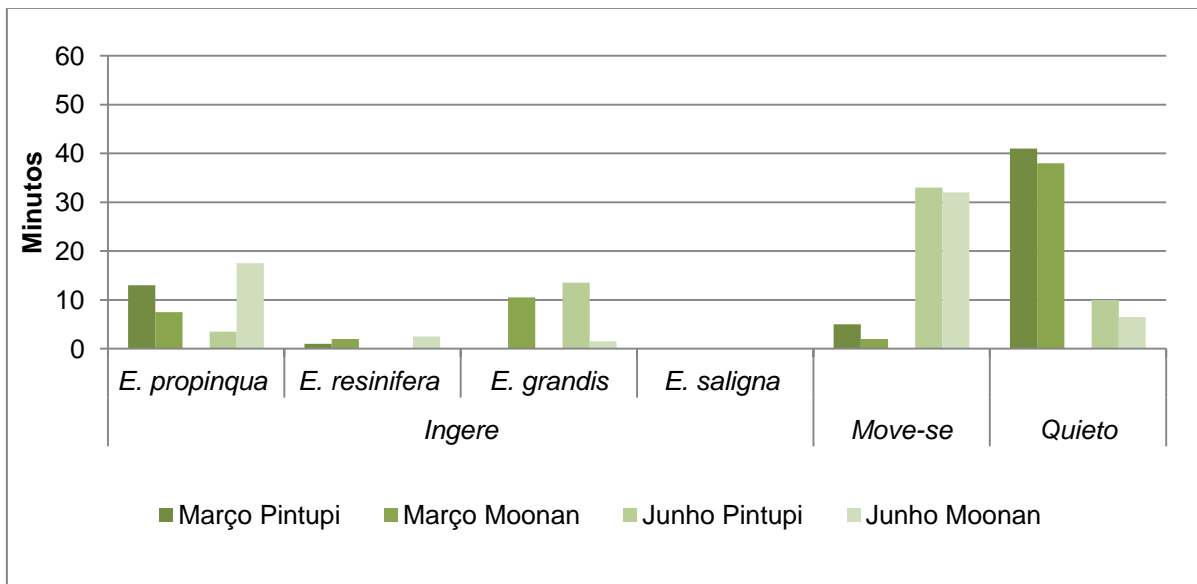
**Gráfico VI.** Comportamentos exibidos pelos koalas do sexo feminino, em minutos, durante os primeiros sessenta minutos em que as espécies *E. rudis*, *E. cinerea*, *E. maculata* e *E. cyphelloarpa* estiveram disponíveis para consumo. D1= dia 1 do ensaio.



**Gráfico VII.** Número médio de minutos despendidos, por cada koala do sexo feminino, na ingestão das espécies de eucalipto *E. rudis*, *E. cinerea*, *E. maculata* e *E. cypellocarpa*, durante os primeiros sessenta minutos em que estiveram disponíveis para consumo.

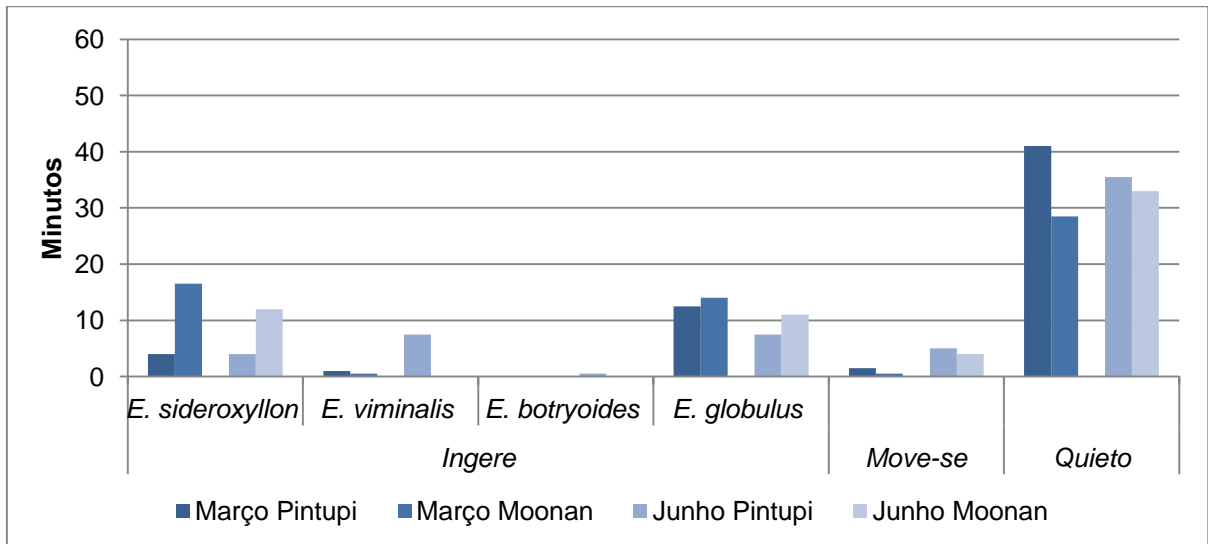


**Gráfico VIII.** Comportamentos exibidos pelos koalas do sexo masculino, em minutos, durante os primeiros sessenta minutos em que as espécies *E. propinqua*, *E. resinifera*, *E. grandis* e *E. saligna* estiveram disponíveis para consumo.

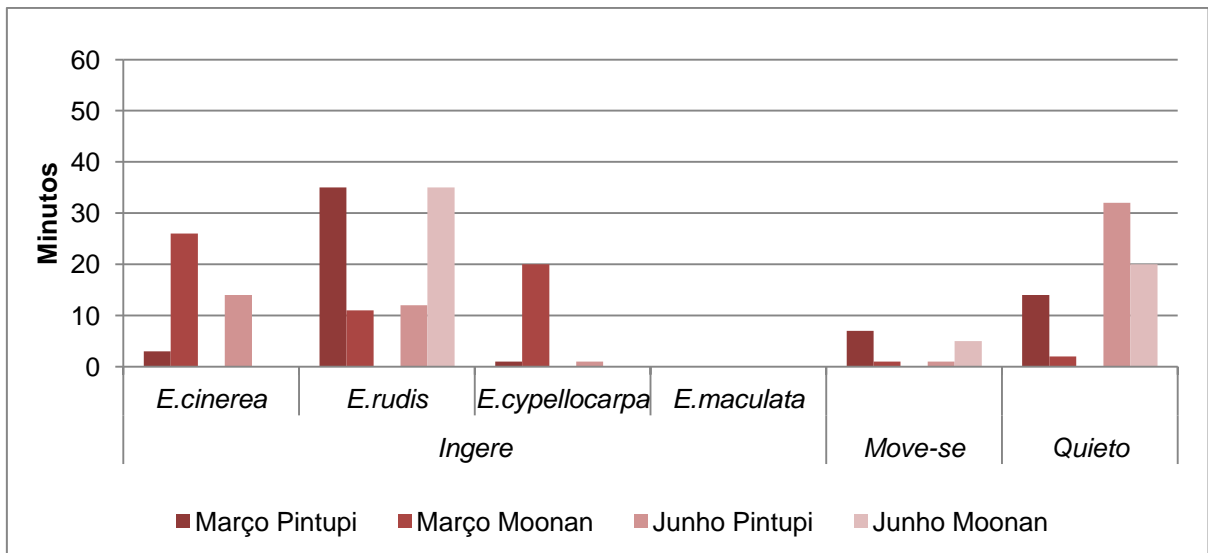




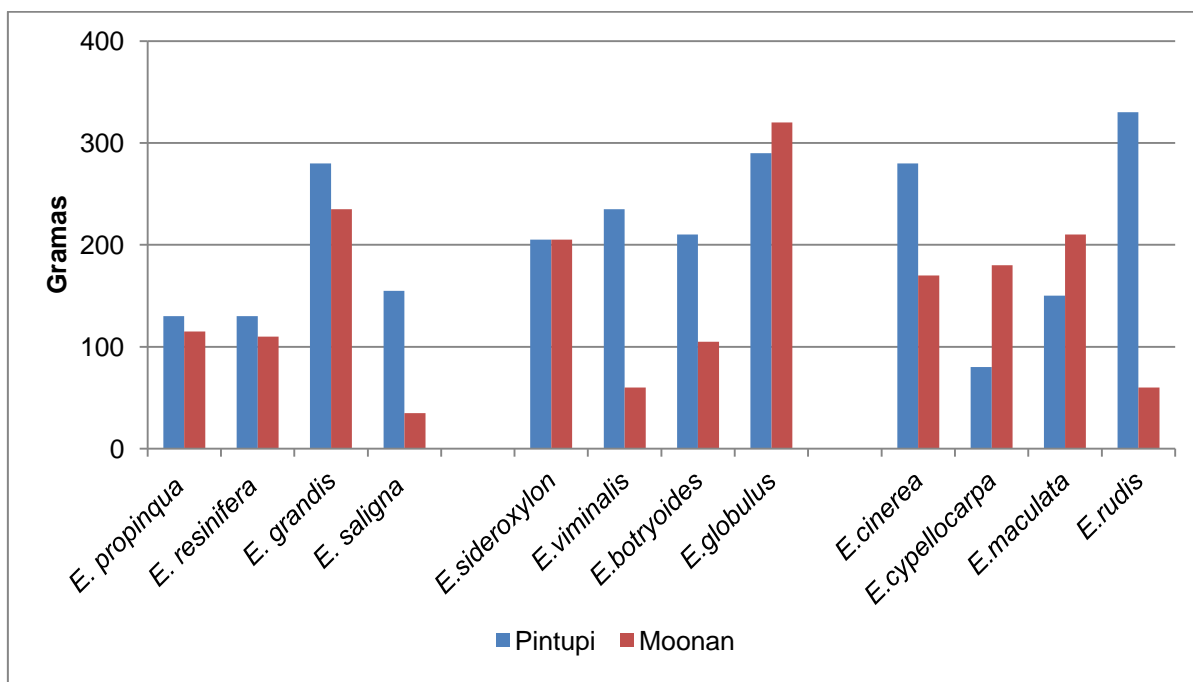
**Gráfico IX.** Comportamentos exibidos pelos koalas do sexo masculino, em minutos, durante os primeiros sessenta minutos em que as espécies de eucalipto *E. viminalis*, *E. botryoides*, *E. sideroxyllon* e *E. globulus* estiveram disponíveis para consumo.



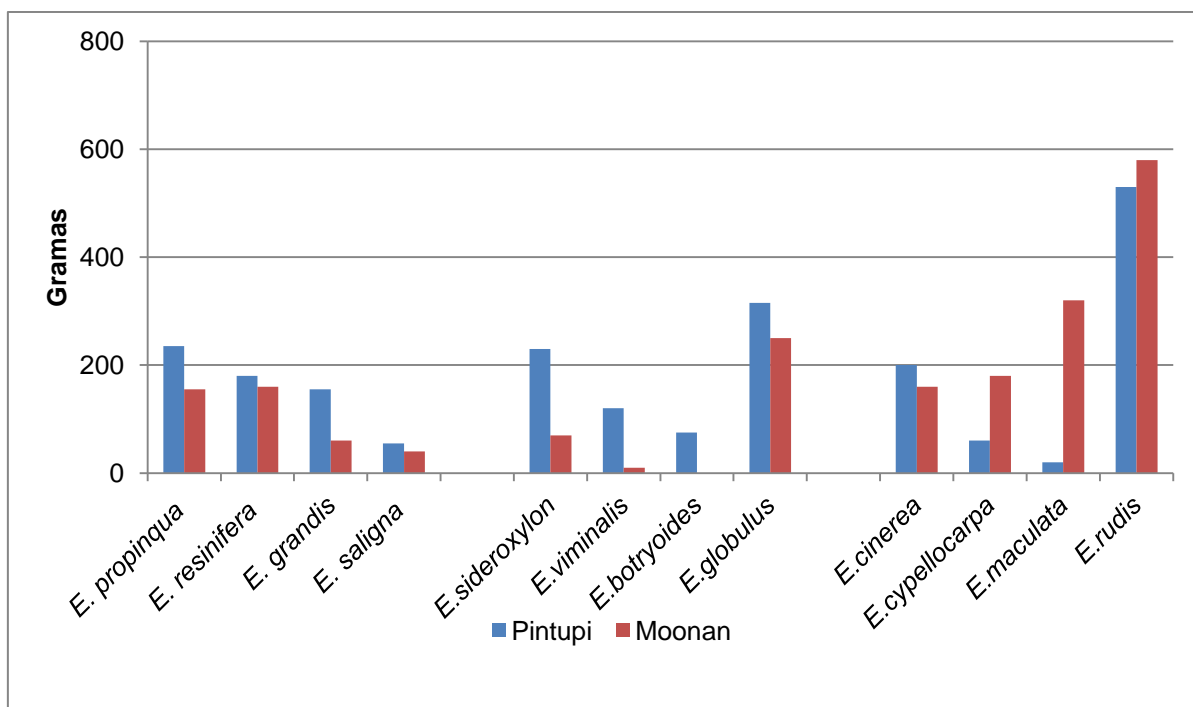
**Gráfico X.** Comportamentos exibidos pelos koalas do sexo masculino, em minutos, durante os primeiros sessenta minutos em que as espécies de eucalipto *E. rudis*, *E. cinerea*, *E. maculata* e *E. cypellocarpa* estiveram disponíveis para consumo.



**Gráfico XI.** Consumo médio de folhagem, em gramas, pelos koalas do sexo masculino (Março).



**Gráfico XII.** Consumo médio de folhagem, em gramas, pelos koalas do sexo masculino (Junho).



**ANEXO III - ANÁLISE NUTRICIONAL DO EUCALIPTO**

**Tabela X.** Valores de Matéria Seca (MS), Cinza, Fibra Detergente Neutra (NDF), Fibra Detergente Ácida (ADF), Lenhina Detergente Ácida (ADL) e Proteína Bruta (PB), expressos em % de Matéria Seca, de 5 espécies de eucalipto, relativos ao período de Setembro 2012 a Janeiro 2013, provenientes da Mata do Escaroupim.

<b>Data</b>	<b>Espécies</b>	<b>MS</b>	<b>Cinza</b>	<b>NDF</b>	<b>ADF</b>	<b>ADL</b>	<b>PB</b>
<b>26.09.2012</b>	<i>E. globulus</i>	0,327	4,847	30,001	16,866	8,523	11,641
	<i>E. robusta</i>	0,326	5,800	32,657	22,089	9,533	8,605
	<i>E. punctata</i>	0,334	3,994	42,342	31,272	16,611	7,731
	<i>E. viminalis</i>	0,313	4,069	26,194	22,845	8,625	13,756
	<i>E. camaldulensis</i>	0,124	4,452	17,807	10,570	4,287	11,092
<b>24.10.2012</b>	<i>E. globulus</i>	0,366	4,180	33,139	20,442	9,783	8,264
	<i>E. robusta</i>	0,301	4,356	28,927	19,133	11,329	8,014
	<i>E. punctata</i>	0,329	3,884	40,470	35,178	19,746	10,717
	<i>E. camaldulensis</i>	0,353	4,775	38,766	24,241	10,754	10,535
<b>21.11.2012</b>	<i>E. globulus</i>	0,288	6,028	32,025	20,390	12,543	10,846
	<i>E. robusta</i>	0,338	4,840	33,329	21,978	16,888	11,681
	<i>E. punctata</i>	0,342	4,303	45,278	34,196	17,949	10,461
	<i>E. viminalis</i>	0,303	4,750	39,404	23,534	12,344	14,241
	<i>E. camaldulensis</i>	0,353	5,233	41,903	25,373	11,745	13,488
<b>28.12.2012</b>	<i>E. globulus</i>	0,299	5,057	32,730	22,336	16,943	12,255
	<i>E. robusta</i>	0,388	6,514	35,545	25,822	11,712	8,192
	<i>E. punctata</i>	0,347	4,262	45,367	33,279	15,859	9,885
	<i>E. camaldulensis</i>	0,279	5,220	33,103	23,170	15,099	-
<b>23.01.2013</b>	<i>E. globulus</i>	0,305	6,853	32,573	18,724	12,458	11,558
	<i>E. robusta</i>	0,344	5,423	34,549	20,659	8,913	13,017
	<i>E. punctata</i>	0,380	4,473	47,517	33,835	16,892	11,130
	<i>E. viminalis</i>	0,312	4,812	41,098	24,834	13,430	16,273
	<i>E. camaldulensis</i>	0,366	4,614	20,921	14,058	8,783	13,758

**Tabela XI.** Valores de Matéria Seca (MS) (%), Cinza, Fibra Detergente Neutra (NDF), Fibra Detergente Ácida (ADF), Lenhina Detergente Ácida (ADL) e Proteína Bruta (PB), expressos em % de Matéria Seca, de várias espécies de Eucalipto, provenientes do Instituto Superior de Agronomia, relativos ao período de Setembro 2012 a Janeiro 2013.

Data	Espécies	MS	Cinza	NDF	ADF	ADL	PB
19.10.2012	<i>E.propinqua</i>	0,393	3,395	45,820	35,893	21,906	12,356
	<i>E.citriodora</i>	0,380	4,605	52,887	45,109	25,087	11,362
	<i>E.cinerea</i>	0,388	3,527	53,678	41,111	23,016	10,361
	<i>E.resinifera</i>	0,381	4,008	44,941	32,791	17,762	8,506
	<i>E.robusta</i>	0,320	5,843	36,270	25,266	11,210	10,611
	<i>E.nitens</i>	0,423	4,175	41,972	31,280	16,320	11,477
12.12.2012	<i>E.regnans</i>	0,354	3,939	41,049	25,889	12,180	13,488
	<i>E. rudis</i>	0,332	5,625	41,563	28,452	14,750	15,196
	<i>E. occidentalis</i>	0,355	5,162	32,637	22,458	18,242	9,416
	<i>E. botryoides</i>	0,356	3,563	50,235	36,986	20,997	14,149
	<i>E. resinifera</i>	0,000	4,194	45,063	32,820	17,703	11,512
	<i>E. crebra</i>	0,424	4,299	38,364	22,962	10,432	11,203
	<i>E. robusta</i>	0,360	4,436	41,575	24,926	13,827	15,052
14.11.2012	<i>E. nicholli</i>	0,374	3,259	58,065	49,033	26,537	10,339
	<i>E. globulus</i>	0,317	5,819	37,987	26,483	15,531	13,832
	<i>E. maculata</i>	0,412	3,684	48,637	36,938	20,219	12,854
	<i>E. rudis</i>	0,393	4,290	41,313	27,297	14,676	11,004
	<i>E. botryoides</i>	0,000	4,083	55,576	44,559	26,116	12,359
	<i>E. crebra</i>	0,348	3,266	37,382	22,473	11,953	10,121
13.03.2013	<i>E.saligna</i>	0,291	4,571	54,015	47,979	27,391	14,573
	<i>E. grandis</i>	0,303	5,076	38,057	24,270	12,805	12,620
	<i>E.propinqua</i>	0,345	4,690	34,181	22,797	9,567	9,284
	<i>E.resinifera</i>	0,313	4,694	33,538	22,551	9,626	10,456
14.03.2013	<i>E.viminalis</i>	0,366	3,928	41,270	26,497	15,300	13,849
	<i>E.globulus</i>	0,319	4,144	32,078	23,554	18,302	11,356
	<i>E.botryoides</i>	0,304	3,891	50,190	40,938	28,942	11,706
	<i>E. sideroxylon</i>	0,391	3,583	33,265	25,079	19,065	10,757
18.3.2013	<i>E.cypellocarpa</i>	0,315	4,763	28,719	19,499	10,548	8,481
	<i>E.maculata</i>	0,362	4,600	41,744	34,704	23,371	10,267
	<i>E.cinerea</i>	0,343	3,709	28,394	19,279	16,696	8,709
	<i>E.rudis</i>	0,345	4,726	38,118	23,551	13,671	8,143

## **Relatório de estágio**

O estágio curricular decorreu durante o período compreendido entre 1 de Janeiro de 2013 e 31 de Julho de 2013. No mês de Janeiro, a autora recolheu bibliografia sobre o tema, delineou o desenho experimental dos testes de cafeteria e começou a inserir os registos que foram recolhidos pelos tratadores, diariamente, durante cinco anos (2008-2012), relativos às preferências alimentares dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa. Os testes de cafeteria foram realizados no Jardim Zoológico de Lisboa, durante dez dias, nos meses de Março e Junho. Durante este período, a autora teve ainda oportunidade de observar alguns aspectos relativos ao comportamento alimentar dos koalas e aprofundar os seus conhecimentos acerca da ecologia alimentar desta espécie.

Durante o período compreendido entre Fevereiro e Julho de 2013, a autora esteve no Laboratório Pais de Azevedo, localizado no ISA, e no Laboratório de nutrição, localizado na FMV, a realizar a determinação dos parâmetros matéria seca, cinza, NDF, ADF, ADL e proteína bruta de 54 amostras de eucalipto. Durante os meses de Abril a Julho, a autora realizou o tratamento estatístico dos dados inseridos acerca das preferências alimentares dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa.

Estas atividades permitiram à autora aplicar os conhecimentos adquiridos nas disciplinas de Nutrição e de Alimentação, comprovar a extrema importância da nutrição no bem estar animal, mais concretamente em animais de zoo, e aprofundar o tema da seletividade alimentar dos koalas do Jardim Zoológico de Lisboa.

